تربية النباتات لمقاومة الأمراض والحشرات

PLANT BREEDING FOR DISEASE AND INSECT RESISTANCE

دكتور
سيدهم اسعد سيدهم
استاذ تربية المحاصيل
كلية الزراعة بمشتهر
جامعة الزقازيق (فرع بنها)

2002

المقدمــة

من المعروف ان المسببات المرضية وكذلك الآفات الحشرية تهاجم النباتات المنزرعة وتسبب خسائر باهظة فى الانتاج الزراعى فى مختلف بقاع العالم، وفى نفس الوقت فإن استخدام المبيدات الكيماوية فى مقاومة الأمراض والآفات المختلفة يزيد من تكاليف العملية الانتاجية ويسبب تلوث للبيئة ويخل التوازن البيولوجى فى البيئة الزراعية ، ومن هنا تبرز أهمية انتاج أصناف جديدة تكون مقاومة وراثيا للمسببات المرضية والحشرية السائدة فى المنطقة . فمثل هذه الأصناف المقاومة تحقق الكثير من المزايا وتتغلب على مشاكل استخدام المبيدات فى عملية المقاومة . وجدير بالذكر أن برنامج انتاج صنف جديد مقاوم للأمراض السائدة فى منطقة زراعته يتطلب خبرة كثيرة ودراية تامة بالصنف النباتى وكذلك المسبب المرضى وطرق إجراء العدوى الصناعية واختيار الطريقة المناسبة فى عملية التربية وغيرها من المعلومات الضرورية التى تهم المربى لتحقيق الهدف من برنامج التربية . ومن هنا فنحن نقدم هذا الكتاب ليشمل على المعلومات الاساسية وطرق التقنية الحديثة المستخدمة فى التربية لمقاومة الأمراض والحشرات والتى تغطى احتياجات المهتمين بهذا الموضوع . ويشمل الكتاب على ثلاثة أبواب رئيسية. يحتوى الباب الأول على أساسيات التربية لمقاومة الأمراض والحشرات ويتضمن سبعة فصول تتناول أهمية التربية للمقاومة للامراض وطبيعة ومفهموم المقاومة واسباب حدوثها ووراثة التفاعل بين العائل والطفيل والمصادر المختلفة للمقاومة الوراثية بالاضافة الى دراسة المسببات المرضية واسباب فقد المقاومة الوراثية وينتهى الباب الأول بفصل عن التربية لمقاومة الحشرات . ويتناول الباب الثانى طرق تربية النباتات

لمقاومة الأمراض والحشرات من خلال فصليين يشمل الفصل الأول على الطرق الاساسية للتربية بينما يتضمن الفصل الثانى طرق أخرى للاستفادة من جينات المقاومة . ويشمل الباب الثالث على الاتجاهات الحديثة فى التربية لمقاومة الأمراض والحشرات ويحتوى هذا الباب على ثلاثة فصول. يتضمن الفصل الأول تقنيات زراعة الانسجة بينما يشمل الفصل الثانى على العلامات المميزة الجزيئية ويحتوى الفصل الثالث على تقنية الهندسة الوراثية ودورها فى انتاج أصناف مقاومة للامراض والحشرات .

ونأمل أن يكون هذا الكتاب لبنة فى بناء البحث العلمى ويحقق الهدف من إصداره فى إنارة الطريق لكل الباحثين والمهتمين بتربية النباتات لمقاومة الأمراض والحشرات فى ربوع الوطن العربى. ولا يسعنا أيضا الا ان نقدم الشكر الى الاستاذ الفاضل الدكتور / حسين رشدى نظيم الاستاذ المتفرغ بقسم الوراثة بكلية الزراعة بمشتهر على تفضلة بمراجعة هذا الكتاب .

والله ولى التوفيق ،،،

دكتور / سيدهم اسعد

المحتويات

الموضوع	الصفحة

الموضوع	الصفحة

الموضوع	الصفحة



الباب الأول

يتناول هذا الباب أساسيات التربية لمقاومة الأمراض والحشرات ويشمل على:

الفصل الأول: مبادىء أساسية

الفصل الثانى: طبيعة ومفهوم المقاومة وأسباب حدوثها

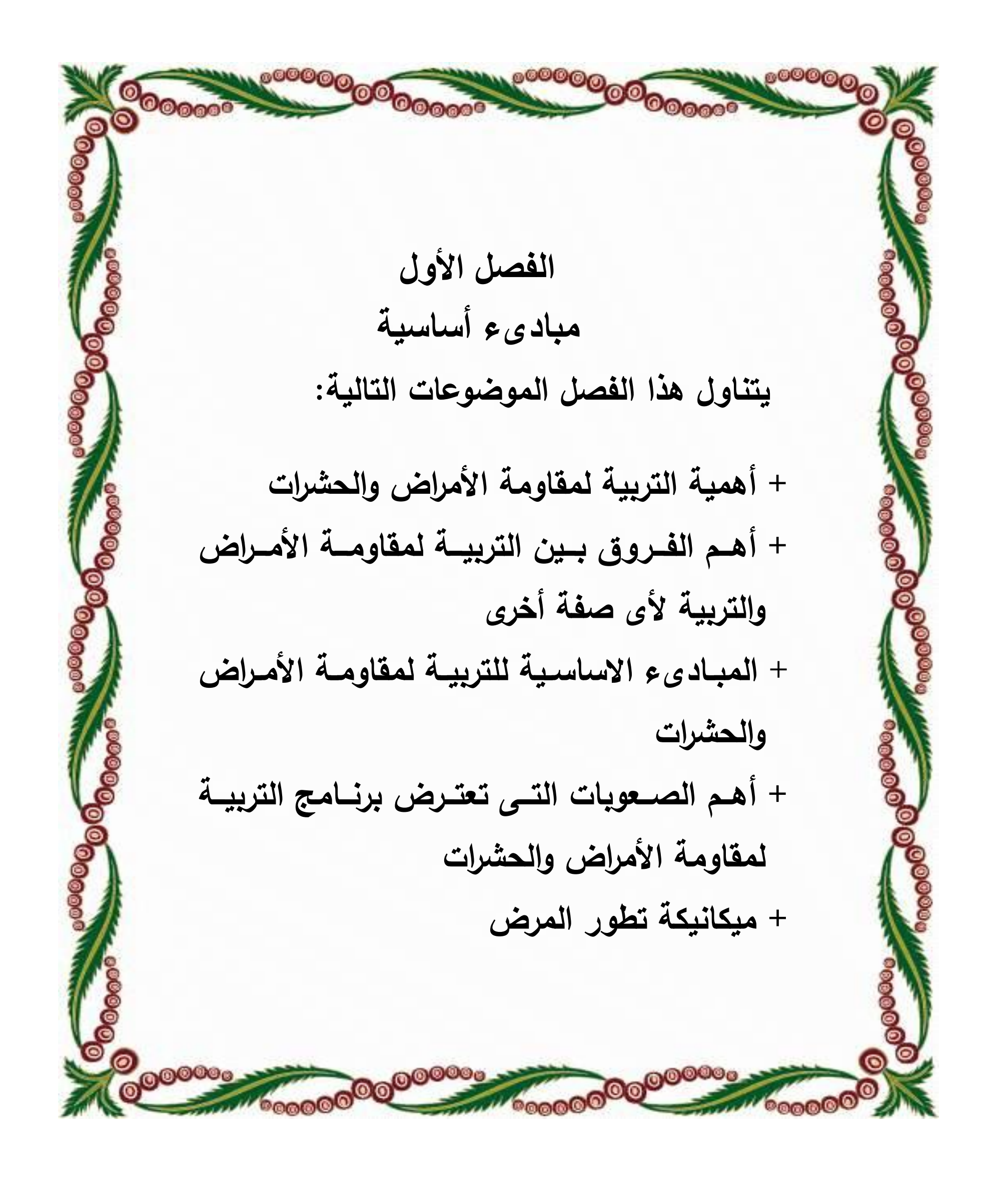
الفصـــل الثالــث: وراثــة التفاعـل بـين العائـل والطفيـل ووراثة المقاومة للأمراض

الفصل الرابع: مصادر المقاومة الوراثية

الفصل الخامس: المسببات المرضية

الفصل السادس: أسباب فقد المقاومة الوراثية

الفصل السابع: التربية لمقاومة الحشرات



الفصل الأول

مبادىء أساسية

يتناول هذا الفصل الموضوعات التالية:

+ أهمية التربية لمقاومة الأمراض والحشرات
+ أهم الفروق بين التربية لمقاومة الأمراض والتربية لأى صفة أخرى
+ المبادىء الاساسية للتربية لمقاومة الأمراض والحشرات
+ أهم الصعوبات التى تعترض برنامج التربية لمقاومة الأمراض والحشرات
+ ميكانيكة تطور المرض

أهمية التربية لمقاومة للأمراض والحشرات

تتعرض النباتات الى مهاجمة العديد من المسببات المرضية والآفات الحشرية التى تسبب تدهوراً كبيراً فى كمية إنتاجها ونوعيته ، ويتوقف الضرر الناشئ من وجود هذه الكائنات الممرضة على ثلاثة عوامل هى :-

1- مدى قدرة المسببات المرضية على إحداث العدوى .

2- الخصائص التركيبية والفسيولوجية للنبات العائل والتى تلعب دورا هاماً فى مواجهة هجوم الطفيل .

3- الظروف البيئية السائدة فى المنطقة .

فإذا كان للطفيل Pathogen قدرة مرضية عالية ولا يمتلك النبات العائل Host من الخصائص والصفات ما يمكنه من صد هجوم الطفيل وفى نفس الوقت تكون الظروف البيئية ملائمة لنمو الطفيل فيتسبب ذلك فى حدوث الإصابة المرضية مما يترتب عليه تدهور النبات فى صفاته ومحصوله . وعلى العكس من ذلك، إذا لم يكن للطفيل مقدرة على إختراق الميكانيكيات الدفاعية القوية للنبات العائل وكانت الظروف البيئية غير مناسبة لنمو الطفيل فيؤدى ذلك الى فشل المسبب المرضى فى إحداث العدوى وتكون محصلة هذه العلاقة عدم تأثر المحصول المنزرع ولا يحدث اى ضرر من وجود المسببات المرضية. ومن هنا تأتى أهمية دراسة الأسباب التى تجعل النبات يقاوم أو يتفادى التأثير الضار لهذه المسببات المختلفة سواء كانت فطريات أو بكتريا أو فيروسات أو حشرات ..الخ . وعموما هناك طريقتين رئيسيتين يمكن من خلالهما التحكم فى خطورة هذه الطفيليات والآفات الحشرية:

الطريقـة الأولـى: تعتمد علـى مجموعـة مـن العوامـل التـى تحد مـن انتشـار الكائنـات الممرضـة مثـل اتبـاع الـدورة الزراعيـة المناسـبة ، أو اسـتخدام تقـاوى نظيفـة ، أو اسـتخدام المبيـدات المختلفـة وغيرهـا مـن العوامـل الزراعيـة والتـى تسـمى Phytopathological measures . وفيهـا تتم المقاومـة فـى وقت قصير وتحتـاج الـى عمالـة ونفقات قليلـة فـى كل مرة تستخدم فيها بالمقارنة بالوقت والتكاليف اللازمة لتربية صنف جديد مقـاوم للامـراض والحشـرات، لكنهـا لا تصـلح لـبعض الأمـراض مثـل الفيروسـات وأمـراض عفـن الجـذور والأصـداء وغيرهـا ، واذا اسـتخدمت المقاومـة الكيماويـة فـى حالـة الأمـراض أو الحشـرات فانـه يترتـب علـي استخدامها مجموعة من المشاكل مثل :

1- زيادة تكاليف المقاومة لارتفاع أسعار المبيدات .
2- يحتاج استخدام المبيدات الى مهارة خاصة واحتياطات عديدة لزيادة كفاءة عملية الرش وحماية القائم بالعملية .
3- يتطلب برنامج المقاومة معاملة النبات اكثر من مرة خلال الموسم الزراعى الواحد .
4- يسبب استخدام الكيماويات تلوث البيئة .
5- حدوث خلل فى الاتزان البيولوجى فى البيئة الزراعية .
6- لا يفيـد اسـتخدام المبيـدات فـى مقاومـة بعـض الأمـراض كتلـك القاطنة للتربة وغيرها .
7- يـؤدى اسـتمرار اسـتعمال المبيـدات الـى حـدوث مناعـة لـبعض الكائنات الممرضة أو الآفات وقد تظهر سلالات اخرى اكثر ضراوة .

الطريقة الثانية: تعتمد هذه الطريقة على مقاومة النبات العائل للطفيل من خلال وجود بعض الصفات الهامة فى النبات والتى من شأنها الحد من انتشار المرض داخل النبات نفسه وفى هذه الحالة تصبح هذه الأصناف مقاومة وراثيا لهذه الطفيليات وتسمى Resistant varieties . وفى هذه الطريقة يحتاج انتاج الصنف الجديد الذى يحمل صفات المقاومة الوراثية الى عدد كبير من السنوات قد يصل الى 12 – 15 سنة ولكن بمجرد انتاج الصنف المقاوم تصبح صفة المقاومة مرتبطة بالنبات وتستمر معه فترة من الزمن .

يتضح من ذلك أن إنتاج أصناف مقاومة للمسببات المرضية والآفات الحشرية يعتبر افضل الطرق من جميع النواحى ويتضح ذلك اكثر إذا علمنا أن التربية لمقاومة الأمراض **تحقق الكثير من المزايا التى يمكن تلخيصها فيما يلى** :

+ من وجهة نظر المزارع تعتبر هذه الطريقة افضل واسهل الطرق لمقاومة الأمراض والآفات .
+ تقلل من خطر تلوث البيئة سواء كانت هواء أو تربة أو ماء نتيجة عدم استخدام اى مبيدات .
+ تلعب دوراً رئيسياً فى التقليل أو منع الفقد فى المحصول yield ومنع تدهور صفات الجودة quality التى قد تحدث نتيجة الإصابة المرضية .
+ أقل تكلفة من غيرها من الطرق بالنسبة للمزارع .

+ تكون الوسيلة الوحيدة الفعالة ضد بعض الأمراض حيث لا يمكن استخدام الكيماويات بفعالية مثل الأمراض القاطنة للتربة كأمراض الذبول وتعفن الجذور وأمراض التبقع والأصداء والتفحمات والنيماتودا وغيرها من .

+ إدخال صفة المقاومة الى النبات يجعلها صفة دائمة تستمر لفترة من الزمن مع النبات عكس استخدام المبيدات التى يجب تكرار استخدامها اكثر من مرة للمحصول الواحد وفى الموسم الواحد لضمان فعاليتها فى المقاومة.

+ استخدام الأصناف المقاومة يمنع أو يعيق انتشار الوبائية لبعض الأمراض والآفات مما يساعد على حفظ التوازن الحيوى فى البيئة .

+ استخدامها لا يسبب خطر أو ضرر لصحة كلا من الإنسان والحيوان .

+ لها دور فعال فى مقاومة بعض الأمراض التى يصعب التحكم فيها كالأمراض الفيروسية .

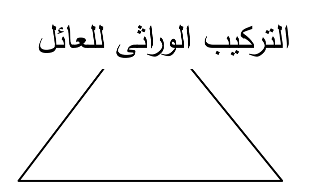
من ذلك يتضح أن إنتاج أصناف مقاومة للأمراض والحشرات ذو أهمية بمكان . ولذلك يبذل مربى النبات أقصى جهده لإنتاج أصناف جديدة تتميز بقدرتها العالية على مقاومة المسببات المرضية والآفات الحشرية فى المنطقة التى ينمو فيها المحصول بالاضافة الى الصفات المحصولية الاخرى الهامة. ولكى يتحقق الهدف من برنامج التربية لمقاومة الأمراض والحشرات يتطلب ذلك تضافر جهود كل المشتغلين فى مجال المحاصيل والبساتين والوراثة وأمراض النبات والحشرات والبيوتكنولوجى لكى يكون

هنالـك تكامـل فـى العمـل حتـى يـنجح برنـامج التربيـة وتتحقـق المقاومـة المطلوبة.

<u>أهم الفروق بين التربية لمقاومة الأمراض والتربية لأى صفة أخرى:</u>

من الضـرورى أن نوضـح أهم الفروق بـين التربيـة لمقاومـة الأمـراض والحشـرات مـن ناحيـة والتربيـة لأى صـفة محصـولية حتـى يمكـن وضـع الأسـاس العلمـى والـوراثى السـليم عند تصـميم برنـامج التربيـة ، وتظهـر أهـم الفروق فيما يلى :

1- عند التربية لأى صفة يهتم المربى بدراسة العوامل الوراثية المسئولة عن هذه الصـفة والظـروف البيئيـة التـى يـزرع فيهـا النبـات . آمـا فـى حالـة التربيـة لمقاومـة الأمـراض يتعامل المربـى مـع تركيبين وراثيين مختلفين همـا النبـات العائـل Host والطفيـل Pathogen تحـت ظـروف بيئيـة معينـة ، وكمـا سـبق القـول أن هـذه العلاقـة مهمـة جـدا للمربـى ويمكـن تمثيلها بشكل (1) والذى يسمى "مثلث المرض" Disease triangle ولكن مع الآخذ فى الاعتبار عنصر الزمن فانه يفضل أن نطلق عليه "مخروط المرض" ونراعى كذلك التفاعل الداخلى بين العائل والطفيل.



التركيب الوراثى للطفيل   الظروف البيئية

شكل (1) مثلث المرض ذو الأضلاع المتساوية

وكما سبق القول فان تفاعل هذه المكونات الثلاثة قد يعطى نباتات مقاومة للمرض Resistance أو نباتات حساسة للإصابة. Susceptible وحيث أن أضلاع هذا المثلث متساوية فان أهمية هذه المكونات الثلاثة تكون متساوية وتحدث حالة المقاومة عندما لا يكون للطفيل المقدرة على احداث العدوى أو أن الظروف البيئية غير مواتية وان النبات العائل يملك الخصائص التى تمكنه من مقاومة الطفيل (Chaudhary، 1986) .

2- عند التربية لصفة المحصول مثلا يسعى المربى للحصول على الإنتاجية العالية للمحصول فى حد ذاته بينما عند التربية لمقاومة الأمراض والحشرات يهتم المربى بثبات هذه القدرة الإنتاجية العالية للمحصول Stability of yield performance من موسم الى آخر .

3- عند التربية لمقاومة الأمراض والحشرات يهتم المربى عادة بإجراء العدوى الصناعية Artificial epiphytotics للمسببات المرضية حتى يمكن الحكم على مدى وجود المقاومة الفعلية للنباتات المنتخبة أما التربية لآي صفة أخرى فلا تحتاج الى إجراء اى نوع من العدوى الصناعية .

4- القدرة الإنتاجية العالية مثلا بمجرد الحصول عليها فى الصنف الجديد فانها تستمر مع الصنف من موسم لآخر أما صفة المقاومة فقد تفقد بعد عدة سنوات من زراعة الصنف نتيجة عدة أسباب منها ظهور سلالات جديدة من المسبب المرضى تكون اكثر ضراوة أو حدوث تغير

فى الظروف البيئية السائدة وسوف نتناولها بالتفصيل عند الحديث عن أسباب فقد المقاومة الوراثية .

المبادئ الأساسية للتربية لمقاومة الأمراض والحشرات

يذكر Poehlman (1987) وكلا من Poehlman and Sleper (1995) أن هناك العديد من المبادئ الأساسية للتربية لمقاومة الأمراض والحشرات منها ما يتعلق بالنبات العائل ومنها ما يتعلق بالمسبب المرضى، يمكن تلخيصها فيما يلى :-

أ- مبادىء تتعلق بالنبات العائل:

يجب على المربى تحديد مصدر جينات المقاومة resistance genes المسئولة عن مقاومة المرض أو الحشرة السائدة فى المنطقة وهل هذه الجينات متوفرة فى منطقة زراعة الصنف أم يلجأ الى استيراد أصناف من الخارج . وبمجرد العثور على هذه الجينات يقوم المربى بنقلها الى الاصناف التجارية بطرق التهجين العادية أو باستخدام تقنية البيوتكنولوجى. وهنا تبرز أهمية استخدام تقنية العلامات المميزة الجزيئية أو الهندسة الوراثية فى التعرف على جينات المقاومة ليتم نقلها الى الاصناف المنزرعة خصوصا فى الحالات التى لا يمكن فيها استخدام طرق التهجين التقليدية. ومن المعروف أن صفة المقاومة للامراض أو الحشرات فى أغلب الاحيان تكون صفة سائدة dominant ويتحكم فيها زوج أو زوجين من الجينات الرئيسية one or two major genes وقد يتحكم فى صفة المقاومة العديد من العوامل الوراثية polygenes . ويتوقف ذلك على تخصص الطفيل specialization of the pathogen وكذلك طبيعة المقاومة nature of resistance . كما تبرز أهمية إجراء اختبار للنسل progeny test حتى يتم التأكد من أن النباتات المقاومة للمرض تحمل

الدفاعات التركيبية والحيوية التى تمكنها من صد هجوم الطفيل وانها لم تهرب من الاصابة escaped infection.

ب- مبادىء تتعلق بالطفيل :

من أهم خطوات برنامج انتاج صنف جديد مقاوم للأمراض والحشرات هى تعريض النباتات للمسببات المرضية سواء كان ذلك بصورة طبيعية أو بإحداث العدوى الصناعية . وفى هذا الصدد يذكر Poehlman and Sleper 1995 أن العدوى الصناعية يجب ان تكون متشابهة بقدر الامكان مع العدوى الطبيعية ويجب ان تعامل جميع الاصناف بطريقة منتظمة حتى يمكن التمييز بدقة بين النباتات المقاومة والنباتات القابلة للاصابة. كما تتميز المسببات المرضية بقدرتها العالية على تكوين سلالات فسيولوجية physiological races جديدة ربما تكون اكثر ضراوة من السلالات الموجودة. ويقصد بالسلالات الفسيولوجية مجموعة من الكائنات الممرضة التى تتشابه فى صفاتها المورفولوجية ولكنها تختلف عن بعضها فى مقدرتها على أحداث الاصابة المرضية pathogenicity .

أهـم الصـعوبات التــى تعتـرض برنــامج التربيــة لمقاومــة الأمـراض والحشرات :

رغم كل المزايا التى تحققها التربية لمقاومة أمراض إلا أن هناك بعض الصعوبات التى تواجه هذا البرنامج ويجب الإلمام بها حتى يمكن تحديد الطرق المختلفة اللازمة للتغلب عليها، ولقد حدد Nelson (1977) هذه القيود على النحو التالى :

1- عدم القدرة على نقل بعض الجينات المسئولة عن المقاومة من الأب المعطى donor الى الأصناف التجارية Commercial varieties .

2- وجود الارتباط بين جينات المقاومة وبعض الجينات المسئولة عن صفات غير مرغوبة .

3- ظهور العديد من السلالات الفسيولوجية للمسببات المرضية ذات درجات الضراوة المختلفة وكذلك الآفات الحشرية.

4- وجود ظاهرة العقم الذاتى فى النبات العائل والتى تثبط عملية نقل جينات المقاومة .

5- قد يكون من الصعب إيجاد توازن بين التربية لصفة المحصول العالى والتربية لمقاومة الأمراض فقد تكون هناك أصناف ذات قدرة انتاجية عالية ولكنها حساسة للأصابة المرضية .

6- التغير السريع فى الأصناف لكى تلبى احتياجات كلا من المنتج والمستهلك .

7- طول فترة حياة النبات Length of the life cycle of plant species .

8- عدد الجينات المطلوب نقلها لتحقيق مستوى مقبول من المقاومة.

9- صعوبة انتاج صنف جديد مقاوم لجميع المسببات المرضية السائدة .

بعد أن آخذنا فكرة عن ما هية التربية لمقاومة الأمراض والحشرات لنبدأ فى التعرف على كيفية حدوث المرض .

ميكانيكية تطور حدوث المرض
Mechanism of Disease Development

كما سبق القول أن هناك علاقة بين العائل والطفيل والتى يطلق عليها Host- parasite- relationship ويتوقف نجاح برنامج التربية لمقاومة الأمراض على مدى فهم طبيعة هذه العلاقة . وهذه العلاقة تمر بأربعة مراحل هى :

1- الملامسة Contact

وتشمل هذه المرحلة وصول المسبب المرضى الى العائل الذى ينمو عليه وتسمى هذه العملية المهاجمة invasion ويتوقف ذلك على العديد من العوامل البيئية .

2- الاختراق Penetration

ويقصد به دخول الطفيل الى أنسجة النبات العائل ويحدث هذا فقط عندما تكون الظروف ملائمة لنمو جراثيم المسبب المرضى فى مرحلة الملامسة . وتحدث عملية الاختراق من خلال ثلاث طرق هى :

أ- طبقة البشرة والمغطاة بالكيوتيكل لكل من الورقة والساق .

ب- الفتحات الطبيعية مثل الثغور والعديسات .

جـ الجروح الطبيعية أو الحادثة Natural of inflicted wounds

ويتوقف نجاح عملية الاختراق على قدرة الطفيل على عملية الاختراق وقدرة العائل على مقاومة عملية الاختراق وكلا الصفتين يتحكم فيهما عوامل وراثية ولكنهما يتأثران بشدة بالظروف البيئية .

3- -الاستقرار Establishment

ويقصد به استقرار المسبب المرضى داخل انسجة النبات العائل حيث يصل الطفيل الى الأنسجة الداخلية للعائل ويبدأ فى تكوين علاقة مباشرة مع العائل .

4- تقدم الإصابة Development

وفى هذه المرحلة يحدث المرض وتظهر الأعراض المرضية المميزة لهذا المرض نتيجة تكاثر المسبب المرضى بسرعة شديدة وهنا يحدث الضرر الشديد للنبات العائل وتتدهور صفاته مما ينعكس على المحصول النهائى وينتج عن ذلك خسائر فادحة فى المحصول المنزرع .

وكما سبق القول فإن العلاقة بين النبات العائل والطفيل تتوقف على العوامل البيئية خصوصا درجة الحرارة والرطوبة النسبية ، وفى السنوات التى تكون فيها الظروف البيئية غير مناسبة فيكون حدوث المرض قليل ويعرف ذلك باسم "Sporadic " ، وعلى العكس فعندما تكون الظروف البيئية مناسب لنمو المسبب المرضى فان المرض يتضاعف بمعدل سريع وينتشر فى المنطقة كلها ويسبب خسائر شديدة للمحصول المنزرع ويطلق على هذه الحالة اساسا الوبائية epidemic أو epiphytotic .

ويلاحظ أن النبات المقاوم تكون لديه مجموعة من الخصائص النباتية والصفات التركيبية والفسيولوجية التى تمكنه من ايقاف نمو الطفيل فى المراحل الثلاثة الأولى، اما إذا دخل الطفيل الى المرحلة الرابعة فلا يجدى معه سوى استخدام المقاومة الكيماوية أو اى وسيلة أخرى فعالة .



الفصل الثانى

طبيعة ومفهوم المقاومة وأسباب حدوثها

يتناول هذا الفصل الموضوعات التالية:

+ طبيعة المقاومة للأمراض

+ طرز المقاومة الوراثية

+ أسباب صعوبة التربية للمقاومة العامة عن التربية للمقاومة النوعية

+ ميكانيكية مقاومة المرض

+ مفهوم المقاومة الرأسية والمقاومة الأفقية

+ مقارنة بين المقاومة الرأسية والمقاومة الأفقية

+ أسباب حدوث المقاومة الوراثية:

1- الوسائل الدفاعية الموجودة قبل حدوث العدوى

2- الوسائل الدفاعية التى تحدث استجابة للعدوى

طبيعة المقاومة للأمراض
Nature of Disease Resistance

يــذكر Chaudhari (1986) أن المقصــود بطبيعــة المقاومــة للأمـراض هـو مجموعـة مـن الوسـائل والـدفاعات التركيبيـة والفسـيولوجية الموجودة بالنبات العائل والتى تمكنه من صد هجوم الطفيل وتشمل هذه الوسائل ما يلى :

1- الهروب من المرض : Disease Escape

ويقصد بذلك قدرة النباتات الحساسة للإصابة على تجنب مهاجمة المسبب المرضى ، ويرجع ذلك الى بعض الصفات الوراثية والظروف البيئية مثل :

أ - سرعة النمو .

ب - التبكير فى النضج .

جـ- ميعاد الزراعة .

د- طريقة الزراعة .

2- تحمل الإصابة Disease Indurance

يقصد بتحمل الإصابة Disease indurance or tolerance قدرة النباتات على تحمل هجوم الطفيل دون ظهور كثير من الضرر أو الأعراض المرضية. ويمكن لمثل هذه النباتات أن تنمو رغم وجود المسبب المرضى وقد يرجع ذلك الى تحسين بعض العمليات الزراعية، ومثال ذلك بعض أصناف القمح التى تكون اكثر تحملاً للإصابة عند تسميدها بالبوتاسيوم والفوسفور .

وهنا يذكر Wood وأخرون (1983) أن المقصود بتحمل المرض هو وجود مقاومة لما ينتجه الطفيل وليست مقاومة للطفيل فى حد ذاته :

Tolerance is resistance to the disease, i.e., gives resistance to products of the pathogen but not resistance to the pathogen itself

ويمكن أن تحدث حالات التحمل أيضا للنيماتودا والفيروسات وغيرها من المسببات المرضية .

3- المقاومة Disease Resistance

المقصود بمقاومة المرض هو قدرة النبات على الحد من نمو وانتشار الطفيل ، وهذه المقاومة متغيرة جداً وتتراوح من صفر الى 100% فقد تكون النباتات عالية المقاومة أو متوسطة المقاومة أو حساسة للإصابة . ويجدر بنا هنا أن نميز بين مفهوم المقاومة السابق وبين المناعة Immunity فالمقصود بالمناعة هو المقاومة المطلقة وفيها لا يستطيع الطفيل مهاجمة النبات أو إحداث اى أضرار له ، وفى هذه الحالة يكون النبات منيع أو غير منيع فهى حالة مطلقة وليست نسبية أى لا يمكن وصفها بدرجات وأى درجة اقل من المناعة تعتبر مقاومة .

طرز المقاومة الوراثية
Types of Genetic Resistance

أن المقاومة الوراثية يمكن أن تكون صفة بسيطة أو صفة كمية ، فإذا كانت صفة المقاومة يتحكم فيها جين وراثى واحد أو عدد قليل من الجينات ويمكن تقسيم النباتات الى درجات محددة من حيث المقاومة والقابلية للإصابة فتوصف المقاومة فى هذه الحالة بأنها مقاومة بسيطة Qualitative Resistance، أما المقاومة التى تظهر تباين مستمر continuous variation ويتحكم فيها العديد من الجينات فتسمى مقاومة كمية Quantitative resistance ويطلق على المقاومة من النوع الأول مقاومة نوعية أو رأسية Vertical Resistanceأو Specific Resistance، بينما يطلق على المقاومة الثانية أسم المقاومة غير النوعية أو العامة أو الحقلية أو المقاومة الأفقية Horizontal resistance . ويمكن عمل مقارنة بين نوعى المقاومة كما يلى (عن Fehr 1987، وكلا من Poehlman and Sleper 1995) :

المقاومة النوعية:

تتميز هذه المقاومة بالخصائص التالية :

+ يلاحظ أن هذه المقاومة يتحكم فيها جين رئيسى Major gene أو عدد قليل من الجينات الرئيسية .
+ تكون المقاومة فعالة ضد سلالات معينة من الطفيل أو الآفة .
+ يمكن تمييز آليلات الجين الرئيسى ونقلها بسهولة من تركيب وراثى لآخر .
+ تتحمل النباتات المقاومة تغير الظروف البيئية ولكنها تتأثر بشدة بظهور سلالات جديدة من المسبب المرضى .

+ يعاب عليها عدم مقاومتها للسلالات الجديدة من الطفيل ، فعندما يكون هناك نبات يحمل جين مسئول عن المقاومة ويتعرض للعدوى من قبل عدة سلالات مرضية فمن المحتمل أن يكون هذا النبات حساس لسلالة أو أكثر من سلالات المرض ، ومثل هذه السلالات المرضية تكون موجودة بتكرار قليل ولا تسبب ضرر شديد للنبات ولكن بتكرار زراعة هذا النبات من الممكن أن يؤدى ذلك الى زيادة تكرار السلالات المرضية الموجودة الى الحد الذى يمكنها من اصابة النبات .
+ وجد أن الحساسية الفائقة Hypersensitivity تلعب دورا هاما فى احداث هذه المقاومة(Simmond and Smartt 1999).
+ يطلق عليها مجموعة أسماء مثل :
  - المقاومة البسيطة
  - المقاومة النوعية (المتخصصة)
  - وقد يطلق عليها المقاومة الرأسية ولكن يجب ملاحظة أن المقاومة الرأسية قد تكون كمية ايضا .

<u>المقاومة العامة أو الكمية :</u>

تتميز هذه المقاومة بالصفات التالية :

+ يتحكم فيها عدة جينات ذات تأثيرات صغيرة Minor effects.
+ تختلف فعالية هذه المقاومة ولكنها تكون ضد جميع سلالات المسبب المرضى ولكنها تتأثر بتغير الظروف البيئية ، وتستمر المقاومة فعالة فى النبات فترة أطول اذا ما زرع الصنف فى منطقة استنباطه (Singh 1984).

+ هنـاك صـعوبة فـى نقـل هـذه المقاومـة مـن نبـات لآخـر وتقـل درجـة احتمال نقل الجينات المرغوبة من النبات المقاوم الى النبات الحساس للإصابة عندما يتحكم فى المقاومة عدد كبير من العوامل الوراثية .
+ قد يطلق عليها مجموعة اصطلاحات مثل : المقاومة غير المتخصصة (غير النوعية Race non specific) – المقاومة الحقلية (Field resistance) –المقاومة المتجانسة (Uniform)– المقاومة الأفقية Horizontal Resistance (ويجب اخذ ذلك بحذر لأنه احيانا قد يتحكم فى المقاومة الأفقية جين أو جينات رئيسية Major genes) .

أسباب صعوبة التربية للمقاومة العامة عن التربية للمقاومة النوعية:

لقد لخص Mayo (1987) الأسباب المختلفة التى تجعل التربية للمقاومة العامة اكثر صعوبة من التربية للمقاومة النوعية فيما يلى:

1- هناك صعوبة فى اختيار الصفة التى يتحكم فيها عدد كبير من العوامل الوراثية polygenic trait بالمقارنة بالصفة التى يتحكم فيها جين وراثى واحد Major gene .
2- المقاومة العامة يسهل اكتشافها فى الحقل ولكن يصعب ذلك تحت ظروف الصوبة .
3- طريقة التهجين الرجعى والتى تكون مناسبة لنقل جينات المقاومة النوعية لا تكون مناسبة مع المقاومة العامة وحيث يكون هناك ضرورة لزراعة عدد كبير من النباتات لتحقيق هدف البرنامج وقد لوحظ أن المقاومة الجزئية فى نباتات بنجر السكر (beet cyst ellworm) قد فقدت بعد إجراء جيلين رجعيين فقط .

4- من الصعب التمييز بين المقاومة الحقلية وحالة تحمل المرض Disease tolerance .

ميكانيكية مقاومة المرض

هناك ميكانيكية يستطيع النبات من خلالها أن يتغلب على المسببات المرضية والآفات الحشرية المختلفة ، فأما أن يقاوم النبات استقرار الطفيل فى أنسجته أو يقاوم نمو وتكاثر الطفيل بعد دخوله واستقراره داخل انسجة النبات . ويمكن توضيح هذه الميكانيكية كما يلى :

أولاً : مقاومة ترجع الى اختراق واستقرار الطفيل

Resistance to establishment of the pathogen

وفى هذا النوع من المقاومة يفشل المسبب المرضى فى الدخول والاستقرار داخل انسجة النبات العائل فيصبح النبات فى هذه الحالة مقاوماً لهذا المسبب المرضى ويعبر عن هذه المقاومة بعدة اصطلاحات كل منها يحمل ملامح وصفات لهذه المقاومة (Nelson, 1973) :

1- الحساسية الفائقة Hypersensitivity:

وفيها يمنع النبات حدوث العدوى بالطفيل وسوف نتناولها بالتفصيل فيما بعد .

2- المقاومة النوعية Specific Resistance

ونجد فيها أن بعض السلالات المرضية لا يمكنها اصابة النبات بالعدوى .

3- مقاومة غير منتظمة Non uniform Resistance

وفيها يمنع النبات دخول واستقرار بعض سلالات الطفيل ولكنه يفشل مع البعض الآخر .

4- المقاومة ذات الجين الرئيسى Major Gene Resistance

ونجد فيها أن مقاومة السلالات المرضية تكون محكومة بجينات رئيسية فى النبات العائل .

5- المقاومة الرأسية Vertical Resistance

تكون مقاومة النبات موجهة ضد سلالة واحدة أو عدد محدود من السلالات، ويعتمد التباين فى المقاومة التى يظهرها العائل بصفة اساسية على التفاعلات بين الأصناف × السلالة المرضية وليس على تباين الأصناف أو السلالات.

ثانياً: مقاومة النبات لنمو وتكاثر الطفيل بعد استقراره داخل النبات :

Resistance to an established pathogen

وهنا يتوقف الضرر الناتج عن الإصابة على مدى قدرة الطفيل على الانتشار والتكاثر بعد أن يكون قد استقر داخل انسجة النبات العائل ، ويمكن وصف مقاومة النبات لتقدم المرض بعدة اصطلاحات كما يلى :

1- المقاومة الحقلية Field Resistance

وهنا نجد أن عدوى النبات فى المعمل من الممكن أن تسبب له ضرر شديد ولكن فى الحقل فإن النبات ينمو بطريقة طبيعية حتى فى وجود المسبب المرضى .

2- المقاومة العامة General Resistance

وفيها يكون النبات قادراً على مقاومة جميع السلالات المرضية ويمتنع تقدم المرض وانتشاره .

3- مقاومة منتظمة Uniform Resistance

حيث تكون مقاومة العائل متشابهة لكل السلالات المرضية اكثر من كونها قوية لبعض السلالات وضعيفة للبعض الآخر .

4- مقاومة غير نوعية Race- non specific

حيث لا تكون مقاومة النبات مقصورة على سلالات معينة من المسبب المرضى .

5- مقاومة يتحكم فيها جينات ذات تأثيرات صغيرة Minor gene resistance

ونجد فيها أن المقاومة يتحكم فيها عدد من الجينات كل جين له تأثير صغير ولكن تأثيراتها متجمعة .

6- المقاومة الأفقية Horizontal Resistance

ويكون التباين فى المقاومة راجعا بصفة اساسية الى الفروق بين الأصناف والسلالات المرضية بدلا من التفاعل بين الصنف × السلالة .

وقد قام Simmonds and Smartt (1999) بوضع تصور لهذين النوعين من المقاومة أطلق عليهما هذان المفهومان :

أ- **مقاومة ترجع الى تثبيط العدوى :**

Resistance due to inhibition of infection

وهى ترجع الى تفاعلات الحساسية الفائقة Hypersensitive وتكوين الفيتوالاكسينات Phytoalexins وسيأتى ذكرهما فيما بعد.

ب- **مقاومة ترجع الى تثبيط نمو الطفيل :**

Resistance due to growth inhibition

حيث يتم تثبيط ووقف نمو المسبب المرضى داخل انسجة العائل ولا يتم تكوين الجراثيم الخاصة به .ويمكن توضيح ذلك من خلال الرسم الموضح بشكل (2) .

		تثبيط العدوى		
		لاشيء	جزئى	كلى
تثبيط النمو	لاشيء	حساس للاصابة $r = r_S$		
	جزئى		مقاوم $r_S > r > 0$	
	كلى			منيع $r = 0$

Increasing resistance

Decreasing resistance

شكل (2) يوضح المقاومة من خلال مرحلتى تثبيط العدوى وتثبيط نمو الطفيل داخل انسجة النبات العائل ويلاحظ ان r يقصد بها معدل تكاثر الطفيل (Simmonds and Smartt ، 1999).

مفهوم المقاومة الرأسية والمقاومة الأفقية
Vertical and Horizontal Resistance

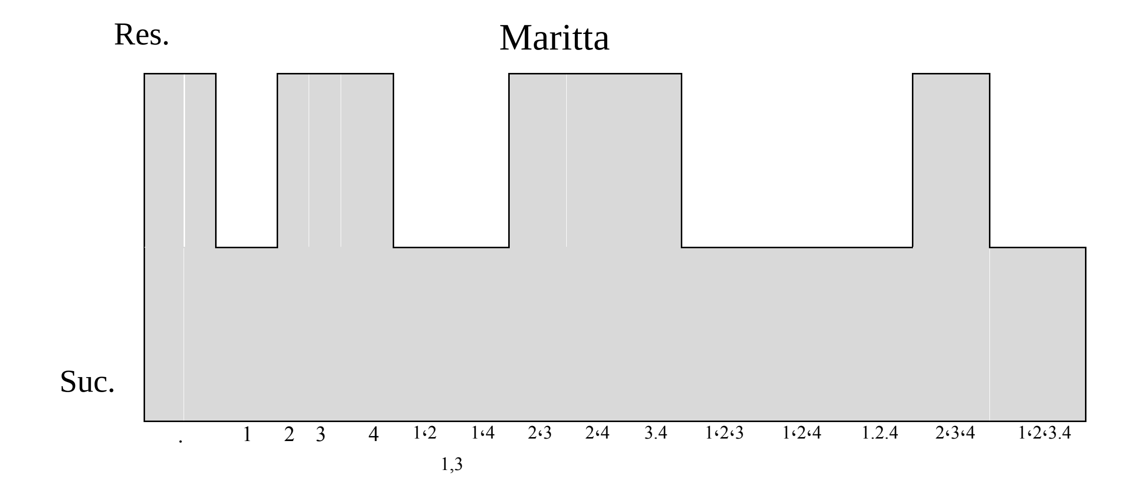
عندما يكون النبات العائل قادراً على مقاومة بعض السلالات المرضية اكثر من غيرها فتسمى هذه المقاومة بإسم المقاومة الرأسية Vertical Resistance، ولكن إذا كان النبات مقاوما لجميع سلالات الطفيل المنتشرة بدرجة واحدة فتسمى هذه المقاومة باسم المقاومة الأفقية Horizontal Resistance (عن Van Der Blank 1963، 1968).

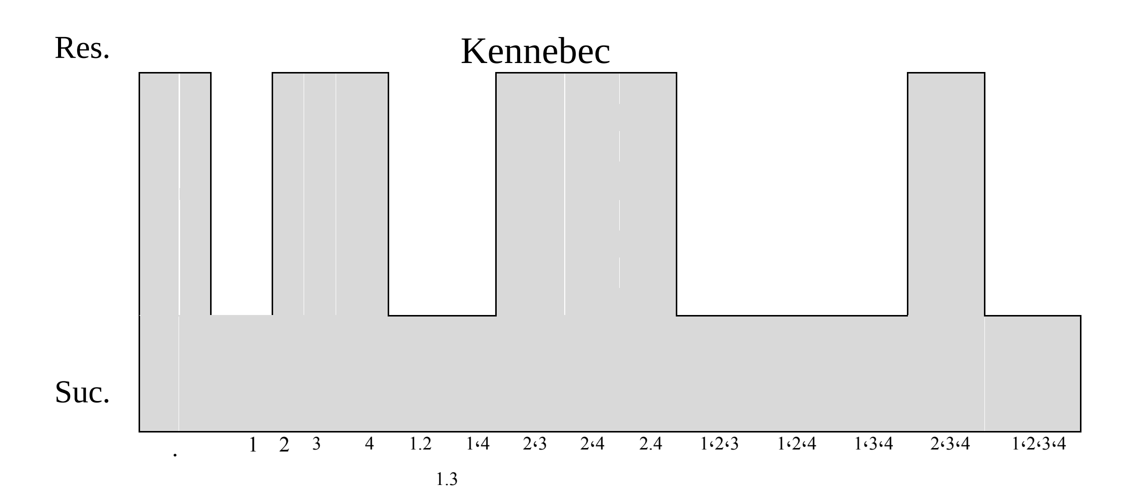
ولتوضيح ذلك فقد قام Van Der Blank بدراسة تأثير 16 سلالة من مرض الندوة المتأخرة والمتسبب عن الفطر *Phytophthora infestans* على صنفين من البطاطس (Maritta و Kennebec) . وأظهرا كلا الصنفين مقاومة رأسية (كاملة) للسلالات ذات الأرقام (0) ، (2)، (3) ، (4)، (2 ، 3)، (2 ، 4) ، (3 ، 4) ، (2، 4،3)، بينما المقاومة للسلالات الثمانية الباقية كانت أفقية وكبيرة للصنف Maritta عن الصنف Kennebec ، والشكل رقم (3) يوضح أهم الفروق بين نوعى المقاومة بالنسبة لصنفى البطاطس .

ويذكر Van Der Blank (1963) أن المقاومة الرأسية تكون مصحوبة بدرجة من المقاومة الأفقية حيث أنه من الصعب أن نجد نباتا خاليا تماما من المقاومة للمسبب المرضى .

وأقترح Van Der Blank (1968) أن ظهور المقاومة الرأسية يبدأ بعد اختراق الطفيل للعائل وتحدث المقاومة نتيجة تفاعلات الحساسية الفائقة Hypersensitivity وكذلك إنتاج الفيتوالاكسينات Phytoalexins ، وعلى الرغم من أن هذه الوسائل والميكانيكيات لا تمنع

نهائيا دخول الطفيل الى العائل ولكنها تمنع انتشار المسبب المرضى داخل انسجة العائل فتصبح النباتات على درجة عالية من المقاومة .





شكل (3) يوضح المقاومة الأفقية والرأسية لصنفين من البطاطس Maritteو Kennebec لستة عشر سلالة من فطر *Phytophsora infestans* المسبب للندوة المتأخرة ، وتظهر هناك مقاومة رأسية عالية

للســلالات الأرقــام (0)، (2)، (3)، (4)، (2، 3) ، (2 ، 4) ، (3 ، 4) ، (2، 4،3)، بينما المقاومة للسلالات الثمانية الباقية كانت أفقية وكبيرة للصنف Maritta عن الصنف Kennebec ،

وتعمل المقاومة الأفقية ضد جميع سلالات الطفيل ولكن المقاومة التى تحدث تكون اقل من تلك التى تظهر فى المقاومة الرأسية الموجهة ضد سلالات معينة من الطفيل . وقد تبدأ المقاومة الأفقية قبل أو بعد حدوث عملية العدوى وتكوين جراثيم الطفيل . ومن الواضح أن انسجة النباتات التــى تعطــى مقاومــة أفقيــة تكــون أو تصــبح غيــر ملائمــة لنمــو المســبب المرضــى . وتعتمد ميكانيكية الدفاع فى هذه الحالة على تقليل عملية إنبات جراثيم الطفيل وتثبيط نشاطه ويقل انتشار المسبب المرضى فى الحقل ولكن لا تكون درجة المقاومة كما هو الحال فى المقاومة الرأسية .

ويفترض Van Der Blank (1986) أن العلاقة بين العائل والطفيل اما أن تكون ثابته stable أو غير ثابته unstable والحالة الأولى تمثل المقاومة الأفقية Horizontal Resistance والتطفل الأفقي Horizontal pathogenicity، بينما الحالة الأخيرة تمثل المقاومة الرأســية Vertical Resistance والتطفــل الرأســى Vertical pathogenicity. واضاف أنه إذا كان التباين غير البيئى non-environmental variation النـاتج يرجع الى الفروق بين الأصناف والفروق بين السلالات فيشير ذلك الى المقاومة الأفقية والتطفل الأفقى وحيث تكون التأثيرات من النوع المضيف Additive . وفى حالة المقاومة الرأسية والتطفل الرأسى يكون التباين غير البيئى ناتج عن التفاعل بين الأصناف × السلالات المرضية .

وفى حالة المقاومة الرأسية فإن ترتيب الأصناف تبعا لشدة المرض يعتمد على السلالات المرضية المستخدمة فى الاختبار ، وفى حالة المقاومة الأفقية فإن ترتيب الأصناف يكون مستقل عن السلالات المرضية (Parlevliet and Zadoks 1977) .

ويطلق على المقاومة الأفقية الاصطلاحات الآتية :

- Quantitative expression **- Stability**
- Race none specificity **- Polygenic inheritance**

ويطلق على المقاومة الرأسية الاصطلاحات الآتية :

- Qualitative expression **- Instability**
- Race –specificity **- Monogenic inheritance**

مقارنة بين المقاومة الرأسية والمقاومة الأفقية :

هناك مجموعة فروق بين المقاومة الافقية والمقاومة الرأسية يمكن تلخيصها فى الجدول التالى (عن Simmonds and Smartt 1999) :

المقاومة الرأسية VR	المقاومة الافقية HR
تكون متخصصة لسلالة مرضية معينة Pathotype – specific	توجه الى جميع سلالات الطفيل Pathotype- non- specific
يتحكم فيها جين رئيسى أو عدد قليل من الجينات	غالبا ما يتحكم فيها جينات عديدة ذات تأثيرات بسيطة ونادرا جين رئيسى
تسلك سلوك صفة بسيطة أو نوعية	تسلك سلوك صفة كمية
غالبا تظهر فيها تفاعلات الحساسية الفائقة	لا تظهر فيها هذه التفاعلات
لا تستمر لمدة طويلة مع الصنف .	تكون مقاومة مستقرة stable وتستمر لمدة طويلة durable .
يفيد استخدامها فى المحاصيل الحولية.	يفيد استخدامها فى المحاصيل الحولية والمعمرة .
يسهل التربية لها .	اكثر صعوبة .
تكون فعالة فى مقاومة الأمراض القاطنة للتربة immobile وتكون اقل فعالية فى الامراض التى تنتقل جراثيمها عن طريق الهواء mobile الا اذا استخدمت اصناف فى صورة	تستخدم لمقاومة كل المسببات المرضية .

سـلالات متعـددة multilines او مخـاليط الاصـناف mixtures او اسـتخدمت اصـناف تبعـا للمنـاطق الجغرافية .	

أسباب المقاومة الوراثية

Causes of Genetical Resistance

من المعروف أن النباتات التى تتميز بقدرتها على مقاومة هجوم المسببات المرضية تمتلك بعض الخصائص التركيبية والصفات الفسيولوجية تمثل الميكانيكيات الدفاعية التى تجعل النباتات تصد أو تقاوم هجوم الطفيليات المختلفة . وجميع التراكيب النباتية أو الصفات الفسيولوجية أو الكيماوية التى توجد فى النبات قبل حدوث عملية العدوى تعطى نوع من المقاومة تسمى **مقاومة سلبية** Passive Resistance أو المقاومة الاستاتيكية Static Resistance أو مقاومة المكونات الطبيعية للنبات Constitutive Resistance. أما إذا امتلك النبات المقدرة على استحداث وسائل تركيبية أو كيماوية من شأنها الحد من انتشار المرض داخل النبات كرد فعل لعملية العدوى فإن ذلك يدل على وجود نوع من المقاومة تعرف بإسم **المقاومة النشطة** Dynamic Resistance أو المقاومة المستحثة Inducible Resistance . معنى ذلك أن أسباب المقاومة الوراثية فى النبات من الممكن ان تكون تركيبية أو فسيولوجية سواء كانت موجودة فى النبات حتى فى حالة وجود المسبب المرضى أو تلك التى تستحدث بعد العدوى. وسوف نناقش هذه الوسائل الدفاعية المختلفة فى النبات فيما يلى (Singh 1984).

أولاً: الوسائل الدفاعية الموجودة قبل حدوث العدوى :

Pre- existing defense mechanism

أ- **الدفاعات التركيبية** Structural defense mechanisms

تتعدد هذه الوسائل وتشمل :

1- الكيوتيكل Cuticle

يتكون الكيوتيكل من الكيوتين والشموع ، وسمك طبقة الكيوتين وكمية الشموع الموجودة على سطح النبات يحدد كفاءة طبقة الكيوتيكل كخط الدفاع الأول ضد الهجوم الطفيلى . ومن دراسة هذه الطبقة تتضح الحقائق التالية :

+ من المعروف انه لا يوجد طفيل له المقدرة على افراز انزيمات لها القدرة على تحلل الشمع الكيوتيكلى ، وعلى ذلك فإن الشموع تمثل مكون اساسى فى الدفاع التركيبى وتجعل الكيوتيكل عقبة امام اختراق الطفيل أو الحشرة للعائل .
+ وجود الشموع يمنع تجمع قطرات الماء على سطح الخلايا ومن المعروف أن معظم الفطريات تحتاج الى الماء على سطح العائل لكى يتم انبات جراثيم الفطر وطبيعى ان ذلك يقلل من حدوث العدوى المرضية .
+ ويلاحظ ايضا أن الأحماض الدهنية فى طبقة الكيوتين تضفى على سطح النبات شحنات كهربية سالبة تؤدى الى إبعاد جراثيم الطفيل ذات الشحنة السالبة .
+ كما أن سمك طبقة الكيوتيكل يعرقل خروج الطفيل من داخل النبات وهذا يقلل من انتشار العدوى فى العشيرة .
+ ويلاحظ أن بعض الطفيليات تحتاج الى وجود قطرات العدوى infection drops التى تفرزها الأوراق وتحتوى على مواد كيماوية

لازمة لغذاء الطفيل ووجود الشموع يمنع تواجد هذه المواد على سطح الخلايا وهذا يقلل من احتمالات حدوث العدوى بالطفيليات المختلفة .

2- تركيب الجدر الخلوية لخلايا البشرة

Structure of epidermal cell walls

بالنظر الى تركيب الجدر الخلوية لخلايا البشرة تتضح مجموعة من الحقائق هى :-

+ أن تركيب الجدر الخارجية لخلايا البشرة تعتبر أكثر أهمية من طبقة الكيوتيكل حيث تعرقل دخول الطفيل الى النبات وتعتمد هذه العملية على سمك ومتانة هذه الجدر الخلوة ، وحتى لو كانت هذه الجدر لها نفس السمك فإن متانتها تتوقف على عملية اللجننة النسبية التى تحدث فيها وكذلك ترسيب حمض السلسيلك .
+ تختلف درجة العدوى بنفس السلالة باختلاف نوع النبات العائل ويتوقف ذلك على سمك الكيوتيكل والتركيب الخارجى لخلايا البشرة، فنجد مثلا فى مرض اللفحة فى الأرز الذى يسببه فطر *Pyriculria oryza* أن الفطر يخترق النبات اختراق مباشر وذلك من خلال الخلايا الحركية والخلايا الحارسة ولكن معظم الاختراق يتم من خلال الخلايا الحركية وهذا التفضيل يعزى الى أن عملية اللجننة تحدث بسرعة فى الخلايا الأخرى بينما فى الخلايا الحركية فآما الا يحدث بها لجننة أو تحدث عملية اللجننة متآخرة جداً .
+ عندما يزيد تركيز السليكا فى جدر خلايا البشرة لنبات الأرز فأنه يقاوم حشرة حفار ساق الأرز .
+ ويذكر كثيراً من الباحثين أن شدة الإصابة بمرض اللفحة فى الأرز ترتبط بكمية حمض السلسيلك فى أوراق النبات ، وبتقدم عمر النبات

يزداد تراكم هذا الحمض فى جدر الخلايا الحركية ايضا . وهذا يفسر انخفاض معدل الإصابة بمرض اللفحة بتقدم النبات فى العمر . ويلاحظ ان عملية شتل الأرز ونقص النيتروجين يعمل على زيادة معدل امتصاص الجذور للسيلكون ويساعد ذلك على زيادة مقاومة النبات للاصابة المرضية .

+ وعند درجات الحرارة المنخفضة وفى وجود النيتروجين بمعدل عالى فان امتصاص الجذور للسيلكون يكون قليل جداً ويؤدى ذلك الى زيادة الحساسية للاصابة وهذا مثال لدور عملية التمثيل الغذائى فى زيادة المقاومة فى النباتات .

+ وقد وجد أن ترسيب السيليللوز واللجنين فى الجدر الخلوية يعيق اختراق الحشرة للنبات كما هو الحال فى أصناف السورجوم المقاومة لحشرة shoot fly .

+ ويلاحظ ايضا أن درنات البطاطس المقاومة لفطر *Pathium debaryanum* تحتوى على ألياف أعلى من غيرها فى الأصناف الحساسة للاصابة .

3- تركيب وعدد الفتحات الطبيعية

Structures and number of natural openings

عند دراسة تركيب وعدد الفتحات الطبيعية وعلاقة ذلك بقدرة النبات الدفاعية ضد المسببات المرضية نجد الآتي :-

+ كثيراً من الفطريات والبكتريا لا يستطيع الدخول الى النبات العائل الا من خلال الفتحات الطبيعية مثل الثغور والعديسات، ولهذا فإن موقع وعدد وتركيب هذه الفتحات يحدد القدرة المرضية لهذا الطفيليات . وعلى سبيل المثال فإن العدوى بفطر *Xanthomonas pruni* لا تتم

فى التفاح الا اذا تم رش المعلق البكتيرى على السطح السفلى للاوراق حيث تتواجد الثغور . وفى صنف الموالح المسمى Szinkum تحدث المقاومة لفطر *Xanthomonas citri* (مرض تقرح الموالح) لان الثغور تكون صغيرة ومحاطة بتراكيب عريضة وذات شفاه واسعة حيث تمنع دخول قطرات الماء المحتوية على الخلايا البكتيرية .

+ وفى صدأ القمح تحدث العدوى نتيجة اختراق أنابيب العدوى للنبات من خلال الثغور ، وفى بعض أنواع الفطريات يمكن للطفيل ان يضغط على الثغور لفتحها ، أما فى صدأ الساق فى القمح المتسبب عن الفطر *P. grammins tritici* لا يستطيع عمل ذلك ولابد له ان يجد ثغور مفتوحة فى الوقت المناسب حتى تتم عملية الدخول ، وقد لوحظت ميكانيكية دفاعية فى بعض الأصناف (صنف Hope) حيث يتم فتح الثغور فى وقت متأخر من النهار عندما يجف الماء وتفشل الانابيب المعدية فى اختراق العائل .
+ والاختراق من خلال العديسات يتم بواسطة كثير من الفطريات أو البكتريا ويحدد ذلك الشكل والتراكيب الداخلية لهذه العديسات ، فالعديسات الصغيرة الحجم تعيق دخول المسببات المرضية الى النبات وكذلك طبقة السوبرين اسفل العديسات تعرقل من عملية الاختراق ونمو الانابيب المعدية .

4- التراكيب الداخلية Internal structures

أن سمك وصلابة الجدر الداخلية للخلايا تلعب دورا هاما فى اعاقة دخول الطفيليات الى الخلايا النباتية ، وفى كثير من أمراض تبقع الأوراق نجد أن هناك بقع ميتة محاطة بعروق ورقية دلالة على عدم مقدرة الطفيل

على تحلل انسجة عروق الورقة مما يمنع انتشاره . كذلك وجود الخلايا الاسكلرنشيمية ذات الخلايا الصلبة والسميكة تعيق تقدم وانتشار المرض ، ويلاحظ ان استخدام الأسمدة بمعدلات عالية يضعف من هذه الميكانيكيات الدفاعية فى النبات .

<u>ب- الدفاع الكيماوى الحيوى قبل حدوث العدوى</u>

Pre- existing biochemical defense

ويشمل ذلك على ما يلى :

1- المواد المضادة للطفيليات التى يطلقها النبات فى بيئته:

Antifungal and antimicrobal compounds released by the plant in its environment

أثناء مرحلة النمو والانشطة المختلفة المصاحبة له فى النبات فإنه يحدث تبادل مستمر للمواد المختلفة مع البيئة التى يعيش فيها النبات حيث يحدث تبادل بين ما يمتصه النبات سواء من التربة (الماء والعناصر المغذية) أو الهواء (ك ا$_2$ ، ا$_2$) وبين المواد التى ينتجها النبات مثل الغازات والمواد العضوية من الجذور والأوراق . والمواد الناتجة من الأوراق والجذور تحتوى على بعض المواد البيوكيميائية مثل الاحماض الأمينية والسكريات والجليكوسيدات والأحماض العضوية والانزيمات والقلويدات والتوكسينات وغيرها ، وتنتشر هذه المواد فى البيئة المحيطة بالجذور والأوراق ويمكن لها أن تتجمع فى صورة قطرات دقيقة جداً على سطح الأوراق أو تنتشر فى الرطوبة الجوية المحيطة بالأوراق والجذور ، وتختلف طبيعة ونوعية وتوزيع هذه النواتج حسب النوع النباتى المنزرع . وبعض هذه المواد يكون له تأثير مثبط على الكائنات الدقيقة الموجودة أو تشجع نمو بعض الكائنات الدقيقة الأخرى التى تستخدم كمضادات لبعض الطفيليات المرضية .

فمثلا أوراق لوبيا العلف cowpea المقاومة لمرض تبقع الأوراق وجد بها مواد سامة تثبط انبات جراثيم الفطر المسبب للمرض . وايضا وجد ان بعض أصناف الكتان المقاومة لمرض الصدأ المتسبب عن الفطر *F. oxysporium f. sp. Lini* تفرز جذورها الايدروسيانيك HCN ذو التأثير السام على المسبب المرضى، ووجدت نفس هذه المادة ايضا فى جذور كل من الذرة الشامية والسورجوم .

2- المثبطات أو المواد المضادة للميكروبات الموجودة فى خلايا النبات :
Inhibitors or antimicrobial compounds present in the plant cell

يقوم النبات بإنتاج العديد من المواد الكيماوية داخل انسجته مثل الجليكوسيدات والمركبات المحتوية على الفسفور والفينولات والجليكوسيدات الفسفورية والصابونين وغيرها ، وعندما يخترق الطفيل النبات العائل فإنه يواجه بهذه المركبات السامة والتى تمثل عوائق تمنع انتشار الطفيل وهى اساس حالة المناعة أو المقاومة . وفى النباتات المقاومة تزداد نسبة هذه المواد عنها فى النباتات الحساسة للاصابة . ومن المعروف أن زيت الخردل يحتوى على مواد مضادة للفطريات والبكتريا والنيماتودا . ونباتات البطاطس المقاومة لمرض جرب البطاطس وجد انها تحتوى على حمض الكلوروجينك Chlorogenic acid بكمية وفيرة وهذا الفينول له تأثير سام على المسبب المرضى . والمواد الفينولية سواء كانت بسيطة simple phenols أو مركبة complex phenols (tanins) وغيرها من الفينولات الموجودة قبل حدوث العدوى تلعب دوراً هاماً فى احداث المقاومة الوراثية فى النباتات وسوف نتعرض لذلك بالتفصيل فيما بعد .

3- نقص المواد الأساسية لنمو الطفيل :

Lack of essential substances for the growth of the pathogen

هنــاك مجموعــة مــن الطفيليــات تتطلــب بعــض المغــذيات أو المنشطات لكى تستطيع غزو النبات واحداث العدوى المرضية ونقص هذه المواد يمثل بيئة كيماوية غير مرغوبة للطفيل ككل يؤدى الى فشل الطفيل فى احداث الاصابة . فمثلا وجود اندول حمض الخليك والتربتوفان يكون ضرورى لتكاثر بعض انواع النيماتودا فإذا لم توجد هذه المواد فى خلايا العائل لا تستطيع النيماتودا ان تتكاثر أو تسبب ضرر لهذا النبات .

ثانياً : الوسائل الدفاعية التى تحدث استجابة للعدوى :

Post infection mechanical defense

وايضـا تشـمل هـذه الوسـائل ميكانيكيـات دفاعيـة تركيبيـة واخـرى فسيولوجيوية تحدث بعد العدوى وهى :

أ- الدفاعات التركيبية Post infection structures defense

ويشمل ذلك على :

1- **الدفاع الهستولوجى :** Post infection histological defense

يعتمد هذا النوع من الدفاع على الحد من انتشار الطفيل فى انسجة العائل وذلك بتكوين حواجز barriers من مواد كيماوية تحد من نمو وانتشــار المسـبب المرضــى ، وهـذه الحـواجز تشـمل ترسـيب اللجنـين فـى الخلايا وتكوين طبقات فللينية وطبقات فاصلة وتكوين التيلوزات والمواد الصمغية .

+ **تكوين اللجنين Lignin biosynthesis**

أن عمليـة تكـوين اللجنـين فـى الجـدر الخلويـة كاسـتجابة لحـدوث العدوى يمثل دوراً هاماً فى الميكانيكيـة الدفاعيـة للنبـات ، فاللجنين يمثـل حـاجز فعال يمنـع دخول هيفات الطفيل الى داخل النبـات العائل . ومثـال

ذلك – *Septoria tritici* فى القمح وكذلك *Alternaria japonica* فى البطاطس .

وبالإضافة الى فعل اللجنين فى جعل الجدر الخلوية للعائل اكثر صلابة مما يعيق الاختراق الميكانيكى للطفيل فان تكوين اللجنين يجعل الجدر الخلوية مقاومة للانزيمات وكذلك المواد السامة التى يفرزها الطفيل ويمنع انتشارها الى خلايا العائل ويمنع وصول الماء والمغذيات الى الطفيل مما يؤدى الى موته .

+ تكوين الطبقات الفللينية Cork layers

فى النباتات التى تصاب بالأمراض الفطرية أو البكتيرية أو الفيرسية أو النيماتودا نجد أن الخلايا المصابة تحاط بطبقات من الفللين كاستجابة لحدوث العدوى ، وتتكون هذه الطبقات فى السيقان والجذور والثمار غير الناضجة ، وغالبا ما تكون هذه الطبقات سميكة وصلبة فلا يستطيع الطفيل المرور من خلالها . وهذه الطبقات تمثل مانع بين الانسجة المصابة والسليمة مما يعيق تقدم الطفيل .

واحيانا تحث عملية لجننة للطبقات الفللينية مما يزيد من قدرتها على إعاقة الطفيل . ومثال ذلك عفن الريزوبس فى البطاطا Rhizopus rot وكذلك الجرب العادى فى التفاح والبقع الميتة necrotic lesions فى الدخان .

+ التيلوزات Tyloses

عبارة عن تحورات يمكن ان تعوق تقدم الطفيل فى الانسجة الوعائية وتنشأ كتحورات خارجية لبروتوبلاست الخلايا البرانشيمية المجاورة والموجودة فى الاوعية الخشبية . ويؤدى تكوينها الى اعاقة حركة الماء مما يسبب أعراض الذبول على النباتات ولكنها تعوق نمو الطفيل ايضا .

والمثال على ذلك ما يحدث فى مرض ذبول البطاطا المتسبب عن الفطر *F. oxysporium f. sp. Batatas*، (شكل 4) ففى بعض انواع البطاطا ينمو Tyloses بسرعة وبكميات وافرة فى أوعية الخشب الموجودة فى الاجزاء العليا من النبات العائل بينما يكون الفطر مازال فى الجذور مما يحد أو يمنع من وصول الفطر الى الاجزاء العليا حيث أن الفطر لا يمكنه تخلل tyloses وبذلك تلعب هذه الميكانيكية دورا هاما فى جعل هذه الأصناف مقاومة.

+ ترسيب الصموغ Gum deposition

يتم ذلك على حواف الانسجة المصابة ويمثل حاجز ميكانيكى يمنع تقدم الطفيل داخل النبات العائل (شكل 5) ، وتلعب هذه الصموغ دورا هاما فى احداث المقاومة استجابة لعملية العدوى، وقد شوهد ذلك فى كثير من أمراض الذبول حيث تتميز النباتات المقاومة بحدوث ترسيب للصموغ على حواف الانسجة مما يعيق انتشار المسبب المرضى داخل النبات .

2- الدفاع الخلوى التركيبى :

Structural defense at cellular level

يشمل هذا النوع من الدفاع على عدة تغيرات فى جدر خلايا العائل كتلك التى تحدث عند تكوين نسيج الكالوس ، حيث تحدث انتفاخات فى جدر الخلايا تعمل كغمد يغلف هيفات الطفيل عند تخللها لانسجة النبات العائل. وقد يحدث ترسيب اللجنين أو السوبرين على هذه الانتفاخات فتصبح فعالة فى مقاومة المسبب المرضى ، وظهر ذلك فى فطر *Botrytis cinerea* عند دخوله أوراق نبات البسلة .

شكل (4) تكوين الـ Tyloses فى الانسجة الوعائية

شكل (5) ترسيب الصموغ حول حواف الانسجة المصابة

3- الدفاع السيتولوجى Cytoplasmic defense reaction

حيث تتكون بعض العقبات التركيبية فى السيتوبلازم كنتيجة لحدوث عملية العدوى ، وتعتبر أخر خط فى الدفاع التركيبى وهى فعالة ضد الطفيليات البطيئة النمو والضعيفة وهى الطفيليات التى تسبب الأمراض المزمنة أو بعض العلاقات التكافلية مثل بكتريا العقد الجذرية التابعة لجنس Rhizobium التى تنشأ على جذور البقوليات .

4- تفاعلات الحساسية الفائقة :

Necrotic or hypersensitive reactions

تشمل هذه التفاعلات كلا من الدفاعات التركيبية والفسيولوجية ، ففى كثير من الأمراض النباتية وحيث يحدث التلامس بين الطفيل وخلايا العائل فتتحرك نواة خلية العائل نحو الطفيل ويحدث خلل فى نظام الخلية وتتكون حبيبات ذات لون بنى فى السيتوبلازم وتنتفخ الجدر الخلوية واخيرا تموت الخلايا ، ووجود هذه البقع الميتة علامة على وجود المقاومة الوراثية ويعرف ذلك باسم الحساسية الفائقة.

ب- الدفاعات الكيماوية الحيوية :

Post infection biochemical defense

ويشمل ذلك ما يلى :

أولا: انتاج المواد السامة استجابة لحدوث العدوى :

Toxic materials produced in response to infection

أن تكوين المواد المثبطة لنمو الطفيليات يعتبر أهم تفاعل يظهره النبات العائل بعد حدوث عملية العدوى ، ونتيجة لهذا التفاعل تتكون مواد مضادة للفطريات Fungicidal ومواد تحد من نمو الفطر حول مكان الاصابة تسمى Fungistatic . وقد تسبب تكوين طبقات تركيبية مثل الطبقات الفللينية السابقة الذكر والتى توفر حماية كبيرة للنبات العائل.

ويشمل انتاج المواد السامة ما يلى :-

أ- المواد الفينولية : Phenolic compounds

أبسط مكون فى هذه المجموعة هو الفينول والذى يحتوى على مجموعة ايدروكسيد واحدة ، واذا احتوى المركب على اكثر من مجموعة ايدروكسيد فيسمى عديد الفينول polyphenol . وأهم مركبات الفينول الموجودة أو التى تتكون بالنبات بعد حدوث العدوى هى : اللجنينات واللجنانات وجليكوسيدات الفينيل والفلافونويدات والانثوسيانين وغيرها .

والمركبات الفينولية التى تتواجد فى النبات ولكن يزيد معدل تكوينها بعد العدوى تسمى الفينولات العادية أو الشائعة common phenolics وذلك لتمييزها عن تلك المواد التى لا تتواجد بالنبات ولكنها تتكون نتيجة تفاعل العائل مع المسبب المرضى والتى تسمى الفيتوالاكسينات Phytoalexins .

والفينولات العادية أو الشائعة موجودة فى النبات قبل حدوث العدوى ولكن يزداد تراكمها فى الخلايا بعد العدوى ، ويزداد معدل تكوين هذه المواد بسرعة فى النباتات المقاومة عن الحساسة للاصابة . وحمض

الكلوروجينك وجد فى كثير من النباتات التى تعرضت للعدوى بالطفيليات المختلفة كما سبق وذكرنا فى البطاطا والجزر والبطاطس المتسبب عن فطر *Ceratocystis fimbiata* ، والطماطم التى تصاب بالنيماتودا المسببة لتعقد الجذور والمتسبب عن *Meloidogyne incognita* .

ب- الفيتوالاكسينات Phytoalexins

هى مركبات مضادة للكائنات الدقيقة وتتكون فى النبات العائل نتيجة التفاعل بين العائل والطفيل وتتراكم فى مكان حدوث العدوى نتيجة الإصابة بالكائنات الدقيقة . وتكوين الفيتوالاكسينات يماثل ميكانيكية الدفاع بإنتاج الأجسام المضادة فى عالم الحيوان . وتكون هذه المواد عندما تصبح خلايا العائل على اتصال مع الطفيل ويحدث تفاعل المقاومة فقط فى الخلايا الحية . والجدول التالى يبين بعض أنواع الفيتوالاكسينات الى أمكن عزلها :

Phytoalexin	Host	Fungus
Trifbrihizin	Clover	*Monilina fructicola*
Pisatin	Pea	*Monilina fructicola*
Phaseolin	French bean	*Monilina fructicola*
Medicarpin	Alfalfa	*Helimnthosporum turcicum*
Ipomeamarone	Sweet potato	*Ceratocystis fimbriate*
Isocumarin	Carrot	*Ceratocystis fimbriate*

الخصائص العامة للفيتوالاكسينات :

أن الفيتوالاكسينات تتميز بمجموعة من الخصائص تتعلق بوقت تكوينها فى النبات والكمية التى تتكون بها والعوامل التى تتوقف على

تكوينها ، وبصفة عامة يمكن تلخيص أهم خصائص هذه المواد فى النقاط التالية (1976Whitney) :

1- تعمل هذه المركبات على الحد من نمو الفطريات والبكتريا بتركيزات قليلة جداً .
2- تنتج هذه المواد بواسطة النبات العائل نتيجة اصابته بالمسببات المرضية كمنتجات ثانوية لعمليات التمثيل البنائى للكائنات الدقيقة .
3- تكون غائبة من الخلايا السليمة healthy cells أو تكون موجودة بنسبة ضئيلة جداً .
4- دائما تكون قريبة من أماكن تكوينها .
5- تتكون هذه المواد بكميات تناسب حجم العدوى المرضية .
6- تتكون هذه المواد بسرعة داخل الخلايا بعد حوالى 12 - 14 ساعة وتصل الى اقصى تركيز بعد 24 ساعة من عملية الحقن inoculation .
7- تعتبر Host specific أى تتوقف على العائل بدلا من كونها athogen specific ، حيث أن الاستجابة الأساسية لتكوينها يكون مرتبط بالنبات العائل وليس بالطفيل .

ثانيا : الدفاع من خلال التكوين المستحدث للبروتينات والأنزيمات

Defense through induced synthesis of proteins and enzymes:

هناك بعض الانزيمات الموجودة فى النبات العائل يحدث لها تنشيط وتصبح اكثر فعالية نتيجة عملية العدوى بالمسبب المرضى مثال ذلك phenol oxidizing enzymesعندما يزيد نشاطها فى خلايا البطاطس

عند مهاجمة الطفيل المسبب لمرض الندوة المتأخرة . ويلاحظ ان هناك بعض المواد ينتجها النبات وتلعب دورا هاما فى احداث تغيير فى تركيب البروتينات او الأنزيمات مثال الإيثيلين والذى لا يعتبر فى حد ذاته مضادا للفطريات ولكن خلايا العائل تقوم بانتاجه نتيجة عملية العدوى ويتجه نحو الخلايا السليمة للعائل ويعمل على تغيير نشاط البروتين والانزيمات فى الخلايا . وقد لوحظ حدوث هذه الظاهرة فى حالة الكثير من الأمراض البكتيرية والفطرية والفيرسية .

ثالثا : تكوين مواد تقاوم فعل الأنزيمات :

Formation of substrates resistant to enzymes of the pathogen

هناك بعض الطفيليات لها القدرة على افراز انزيمات تحلل الخلايا البكتينية فى الصفائح الوسطى للخلية مثل انزيم بكتين ميثيل استريز pectin methyl estrase وغيره ، وقد وجد ان بعض النباتات لها المقدرة ايضا على انتاج مواد فى الصفيحة الوسطى للخلايا لا تتأثر بمثل هذه الانزيمات التى ينتجها الطفيل ، ومثال ذلك فطر *Rhizoctonia solani* فى الفول البلدى . ويلاحظ ان منظمات النمو ايضا لها دور فى هذه العمليات حيث تقوم الاوكسينات التى يفرزها النبات بزيادة قدرته على مواجهة فعل انزيمات الطفيل مما يترتب عليه دور هام فى احداث المقاومة .

رابعا: تعديل مسارات التخليق الحيوى :

Defense through altered biosynthetic athways :

يــزداد معــدل التــنفس فـــى النباتـــات المصـــابة بتنشـــيط انزيمـــات dehdrogenese, peroxidase, phenol oxidase and deaminase وايضا يتم تكوين انزيمات وبروتينات ومواد اخرى جديدة وتتراكم مثل هذه المواد الى الحد الذى يسبب ضررا للمسبب المرضى مما يكون له دور فى عملية المقاومة . ويتم تكوين هذه المركبات من خلال ممر حمض shikmic والممر المحور للاسيتات .

خامسا: الحساسية الفائقة Hypersensitivity

وتشمل تفاعلات الحساسية الفائقة كل من الدفاعات التركيبية والفسيولوجية والتى سبق الحديث عنها . وتلعب هذه الميكانيكية دورا هاما جدا فى دفع النبات العائل للمسببات المرضية ، وقد لوحظت تفاعلات الحساسية الفائقة فى مرض الندوة المتأخرة فى البطاطس والمتسبب عن الفطر *Phytophsora infestans* ، وكذلك مرض اللفحة فى الأرز والمتسبب عن الفطر *Pyricularia oryza* وكذلك أمراض الأصداء والفيروسات .

وتؤدى تفاعلات الحساسية الفائقة الى الموت السريع لخلايا العائل التى تحيط بموقع الاصابة مع تراكم المواد المضادة للكائنات الممرضة مما يترتب عليه فشل الطفيل فى الحصول على احتياجاته وعدم قدرته على الانتشار داخل الخلايا النباتية (Singh 1984 ، Poehlman and Sleper1995) .



الفصل الثالث
وراثة التفاعل بين العائل والطفيل
ووراثة المقاومة للأمراض

يتناول هذا الفصل الموضوعان التاليان:

+ وراثة التفاعل بين العائل والطفيل

+ وراثة المقاومة للأمراض

وراثة التفاعل بين العائل والطفيل

Genetics of Host- parasite interaction

قام العالم Flor (1956) بدراسة العلاقة بين العائل النباتى والطفيل من خلال مرض صدأ الكتان والمتسبب عن الفطر *Melamplsora lini* وقد وجد أن مقاومة هذا المرض يتحكم فيها اليلات متعددة تقع فى خمسة مواقع يرمز لها بالحروف K, L, M, N, P حيث يوجد اليلين للموقع K، واحد عشر اليل للموقع L ، ستة اليلات للموقع M، ثلاثة اليلات للموقع N ، واربعة اليلات للموقع P . ووجد ان صفة المقاومة فى النبات تكون فى الغالب سائدة بينما صفة الضراوة فى الطفيل Virulence تكون متنحية باستثناء حالة واحدة ولا يوجد تعدد الاليلية بالنسبة للقابلية للاصابة .

ولقد وجد Flor أن هناك 26 جين للمقاومة فى العائل يقابلها 26 جين للضراوة فى الطفيل ، وقد توصل الى نظرية يطلق عليها نظرية الجين مقابل الجين gene- for- gene hypothesis . وتنص هذه النظرية على ان كل جين يظهر تفاعل المقاومة فى النبات العائل يقابله جين مسئول عن الضراوة فى الطفيل :

for each gene conditioning the resistance reaction in the hosts, there is a specific gene conditioning rust pathogenicity in the pathogen.

وهذا يوضح أن هناك علاقة تكامل Complementarity بين جينات المقاومة والضراوة ، ويظهر من ذلك أن المقاومة Resistance تحدث عندما تكون جينات التكامل فى كل من العائل والطفيل سائدة أما

اذا كان كلاهما أو احدهما فى حالة متنحية فتكون النتيجة هى القابلية للاصابة susceptibility .

معنى ذلك ان النبات الذى لا يحمل جينات سائدة للمقاومة يكون حساس لجميع سلالات الطفيل بينما الصنف الذى يحمل جين سائد لتفاعل الصدأ يكون مقاوما لجميع السلالات التى تحمل الجين السائد للضراوة والذى يكون متكاملا معه . والجدول التالى يوضح هذه العلاقة من خلال موقعين هما P, N .

صنف الكتان	تركيب النبات العائل	تركيب سلالة الطفيل	تفاعل المقاومة
Winona	nnpp	A_N’ A_P	قابل للاصابة
Polk	N'N'pp	a_N’ a_N’ A_PA_P	قابل للاصابة
Polk	N'N'pp	A_N'A_N'A_PA_P	مقاوم
Koto	nnPP	A_N'A_N'a_Pa_P	قابل للاصابة
Koto	nnPP	A_N'A_N'A_PA_P	مقاوم
Redwood	N'N'PP	a_N'a_N'a_Pa_P	قابل للاصابة
Redwood	N'N'PP	A_N' or A_P	مقاوم

(عن Flor 1956)

ويلاحظ من الجدول أن الصنف Winona تركيبه الوراثى nnpp وذلك فهو قابل للاصابة بكل سلالات فطر الصدأ ، والصنف Polk تركيبه الوراثى NNpp لذلك فهو مقاوم لسلالات الصدأ التى تحمل التركيب A_N'A_N'A_pA_p ويكون قابلا للاصابة للسلالات المنتحية والأصيلة أى a_N’a_N’A_pA_p ، والصنف Koto يكون مقاوما لكل السلالات التى تحمل الجين Ap ولكنه قابل للاصابة للسلالات التى يكون

تركيبها apap ، وايضا الصنف Red wood ذو التركيب NNPP يكون مقاوما لكل السلالات الحاملة لواحد أو أثنين من الجينات السائدة ANAP ويكون قابلا للاصابة فقط بالنسبة للسلالات الأصيلة والمتنحية أى ananapap. ووجود هذه العلاقة والفعل التكميلى لجينات المقاومة فى العائل مع جينات الضراوة فى الطفيل قد وجدت فى كثير من الأمراض المنتشرة (Flor1971، Day 1974) والجدول التالى يوضح ذلك :

بعض الامثلة على نظرية الجين مقابل الجين

Classification	Parasite- host system
Virus	Tobacco mosaic virus- *Lycopersicon*, Spotted wilt virus- *Lycopersicon*, potato virus *X*- *solanum*
Bacteria	*Xanthomonas malvacearum*- *Gossypium Rhixobium*- Leguminoseae
Phycomycetes	*Phytophthora infestans- Solanum synchytrium endobicoticum- Solanum*
Ascomycetes	*Erysiphe graminis hordei- Hordeum E. graminis tritici- Triticum Venturia inaeqalis- Malus*
Basidiomycetes	*Melampsora lini- Linum, Hemileia vastatrix- Coffea, Puccinia graminis avenae- Avena P. graminis tritici- Triticum, P. heliathi- Helianthus, P. recondite- Triticum, P. sorghi- Zea, P. striiformis- Triticum, Ustilago avenae- Avena, U. hordei- Hordeum, U. tritici- Triticum, Tilletia caries- Triticum, T. contravers- Triticum T. foetida- Triticum*
Deuteromycetes	*Fulvia fulva- Lycopersicon*
Insects	*Mayetiola destructor- Triticum*

(عن VanderPlank ، 1984)

وراثة المقاومة للامراض

Genetics of disease resistance

من النقاط الهامة التى يجب الالمام بها لنجاح برنامج التربية لمقاومة الأمراض هى معرفة وراثة صفة المقاومة التى يظهرها العائل Host تجاه المسببات المرضية pathogens ، ومن خلال الدراسات التى اجريت عن وراثة المقاومة للامراض والحشرات تتضح الحقائق التالية :

1- هناك بعض الحالات التى يتحكم فيها فى المقاومة resistance زوج واحد من الجينات يطلق عليه Major genes أو عدد قليل من الجينات oligogenes . ويفترض ان مثل هذه المقاومة تعمل من خلال نظام الجين مقابل الجين gene- for -gene system (Parlevliet and Zadoks 1977) ، ويطلق عليها مقاومة نوعية أو رأسية .

2- وهناك حالات كثيرة من المقاومة يتحكم فى توارثها جينات عديدة polygene وتورث المقاومة فى هذه الحالة بطريقة كمية ولها درجة توريث عالية لحد ما (Simmonds and Smartt ، 1999) .

3- هناك بعض حالات من المقاومة يتحكم فى توارثها عوامل سيتوبلازمية (Hooker ،1974) كما هو الحال فى مرض تبقع الأوراق Southern corn leaf blight فى الذرة الشامية المتسبب عن الفطر *Helminthosporium maydis* ومرض تبقع الأوراق الأصفر yellow leaf blight فى الذرة المتسبب عن الفطر *Phyllosticta maydis* .

4- فى كثير من الحالات تكون صفة المقاومة سائدة dominance كما هو الحال فى مقاومة الأصداء والبياض الدقيقى والزغبى والفيروسات والنيماتودا ، وفى بعض الحالات الأخرى تكون المقاومة متنحية .

5- قد تشمل المقاومة على تفاعل بين جينين أو اكثر ويعتبر هذا التفاعل تكميلى complementary عندما يصبح وجود مثل هذه الجينات معا ضرورة لإظهار صفة المقاومة . وقد يكون هناك صور أخرى من التفاعل الجينى فقد يحور أو يثبط جين ما على احد المواقع الوراثية جين وراثى فى موقع آخر .

6- بعض الأمراض تظهر حالات من التعدد الآليلى Multiple allelism كما هو الحال فى فطر صدأ الكتان والمتسبب عن الفطر *Milampsora lini* حيث وجد Flor (1956) ان المقاومة لهذا المرض يتحكم فيها عدة آليلات فى خمسة مواقع جينى والتى سبق الحديث عنها عند وراثة تفاعل العلاقة بين العائل والطفيل. وكذلك قد وجد Day (1974) أنه فى حالة الفطر *Puccinia sorgi* المسبب للصدأ العادى فى الذرة الشامية نجد أن الجين Rp له على الاقل 15 آليل وان جميع الآليلات تكون سائدة ومسئولة عن المقاومة عدا الآليل المتنحى rp فهو خاص بإحداث العدوى اذا تواجد بحالة أصيلة .

7- أن العوامل البيئية خاصة درجة الحرارة قد تؤثر على مقاومة النبات للمرض فقد وجد فى الأرز أن المقاومة لمرض اللفحة تتأثر بشدة درجة الحرارة حيث لا تحدث العدوى حتى للاصناف الحساسة عند

26 ْم بينما عند 15 ْم فإن الاصناف المقاومة يحدث لها اصابة
.

8- فى بعض الاحيان قد ترتبط صفة المقاومة لمرض ما مع بعض الصفات المحصولية غير المرغوبة وعلى المربى فى هذه الحالة أن يلجأ الى طريقة يمكن من خلالها كسر هذا الارتباط للاستفادة من جينات المقاومة دون نقل الصفات غير المرغوب فيها .

9- أن الصنف المقاوم لمرض ما فى منطقة معينة ربما لا يكون له المقدرة على مقاومة نفس سلالات المرض اذا زرع المحصول فى منطقة آخرى وبظروف بيئية مختلفة تماما عن المنطقة الأولى ، لذلك يجب على المربى اختبار الأصناف المقاومة فى نفس منطقة زراعتها
.



الفصل الرابع
مصادر المقاومة الوراثية

يتناول هذا الفصل ما يلى :

+ المصادر التقليدية

1- الأصناف المزرعة المحلية

2- الأصناف المستوردة

3- الأنواع أو الاجناس القريبة

4- الأصناف البرية

+ المصادر البديلة

أ- الطفرات

ب- طرق عزل الجينات

مصادر المقاومة الوراثية

Source of genetic resistance

من أهم النقاط التى يجب الاهتمام بها فى برنامج التربية لمقاومة الأمراض والحشرات هى البحث عن مصادر المقاومة الوراثية . حيث أن تحديد الجينات المسئولة عن مقاومة المسببات المرضية يساعد المربى على ادخال هذه الجينات فى الأصناف المنزرعة لمقاومة الطفيليات المرضية السائدة فى المنطقة التى يزرع بها المحصول . وتتعدد مصادر هذه المقاومة وتشمل :

أولا: المصادر التقليدية : Conventional sources

1- الأصناف المنزرعة المحلية Local cultivars

وتتميز هذه الأصناف بأنها متأقلمة مع ظروف المنطقة التى يزرع بها الصنف ، كما أن استخدام الأصناف المحلية فى برنامج التربية لمقاومة الآفات والحشرات يقلل جدا من خطر ظهور اصابة مرضية أو حشرية والتى قد تحدث عند ادخال صنف جديد حيث أن الصنف المحلى قد تم بالفعل اختباره وتقييمه تحت الظروف المحلية ، كما أن الصنف المحلى يلقى قبولا من المزارعين الذين يكون عندهم دراية كاملة بكافة العمليات الزراعية المناسبة لزراعة هذا الصنف .

2- الأصناف المستوردة Exotic cultivars

اذا لم تتواجد جينات المقاومة للمرض أو الحشرة فى الأصناف المحلية يلجأ المربى الى استيراد أصناف منزرعة ربما يجد فيها الجينات التى يبحث عنها لادخال صفة المقاومة للصنف المنزرع ،

وفى هذه الحالة يقوم المربى بإجراء عدوى صناعية لهذه المستوردات بمسببات المرض المراد التربية لمقاومته حتى يمكن تحديد التراكيب التى تحمل جينات المقاومة الوراثية .

3- الأنواع أو الاجناس القريبة Related species & genera

ففى بعض الحالات يلجأ المربى الى هذه المصادر للبحث عن جينات المقاومة كما هو الحال فى نقل جينات المقاومة لأمراض البياض الدقيقى والأصداء فى القمح حيث تم نقلها من الراى (Secale) و (Agropyron) الى القمح (Triticum) ويذكر Roelfs 1988 أن هناك صعوبة فى اتباع هذه الطريقة كما ان المقاومة الناتجة لا تستمر فترة طويلة كتلك المتحصل عليها من نبات القمح نفسه مع العلم ان الراى يظهر درجة مقاومة عالية لكل من البياض الدقيقى والصدأ الأصفر .

4- الأصناف البرية Wild cultivars

قد يلجأ المربى الى البحث عن مصادر المقاومة فى الأصناف البرية فى حالة عدم توفر هذه الجينات فى الأصناف المنزرعة أو المستوردة . ومن المعروف انه فى منطقة النشأة للمحصول يعيش الطفيل مع النبات فى نفس المنطقة ونفس الزمان ويحدث تطور لكلا منهما معا (Watson 1970) ويؤدى ذلك الى حدوث تباين فى المقاومة بالنسبة للنبات العائل وكذلك فى القدرة على احداث العدوى للطفيل . فمنطقة الشرق الأوسط على سبيل المثال تمثل مصدر غنى للجينات المسئولة عن مقاومة الفطريات المسببة لأمراض الصدأ والبياض الدقيقى لمحاصيل الحبوب ومن المعروف ان الشعير والقمح

والشوفان قد نشأت فى هذه المنطقة . وهنا يجب التأكيد على حقيقة هامة وهى ان مراكز النشأة ربما تكون مصادر لسلالات أخرى معدية virulence من الطفيل وهنا يجب ان يتعامل المربى مع هذه المستوردات بوعى وحذر حتى لا تكون هناك فرصة لنقل سلالات مرضية جديدة مع التراكيب الوراثية germplasm التى يستوردها المربى كمصدر لجينات المقاومة لمرض ما ومن هنا تأتى اهمية اختبار المستوردات وخضوعها للفحص فى الحجر الزراعى وللاختبارات الاخرى للتأكد من خلوها من مسببات الأمراض .

وعموما كل هذه المصادر التقليدية التى تستخدم فى نقل جينات المقاومة الى الأصناف المنزرعة قد تواجه ببعض المشاكل مثل :

+ احيانا لا ينجح التهجين بين المحصول المنزرع والنوع النباتى الآخر الذى يمثل مصدر لجينات المقاومة donor species حيث تحدث مشاكل متعلقة بحدوث العقم وعدم ازدواج الكروموسومات وغيرها نتيجة التهجين بين الأنواع والاجناس المختلفة (Harlon and DeWet 1971) .
+ قد نحتاج الى عدة اجيال من التهجين الرجعى للتخلص من الصفات غير المرغوبة التى قد تكون مرتبطة مع صفة المقاومة التى يبحث عنها المربى (Knott 1989) .

ثانياً : المصادر البديلة Alternative sources

تشمل تلك المصادر على :

أ- الطفرات Mutations

اذا لـم تتواجـد جينـات المقاومـة فـى المصـادر التقليديـة كالأصـناف المنزرعـة أو البريـة فيقوم المربـى بالاستفادة مـن امكانيـة العثـور علـى هـذه الجينات باستخدام الطفرات mutations. ولكن يلاحظ الآتى :

1- قد يكون هناك تأثير جانبى غير مرغوب فيه للمعاملة بالمطفرات .

2- قد يحدث هناك تغيير فى بعض الجينات الآخرى .

3- قد يكون للطفرة تأثيرات متعددة غير مرغوب فيها pleiotropic effects .

لذلك فإن المربى الذى يتعامل مع الطفرات كمصدر لجينات المقاومة عليه ان يوجه عناية خاصة للتعامل مع النباتات المطفرة الناتجة حتى يمكن انتـاج اصـناف ذات صـفات مرغوبـة وفـى نفـس الوقـت مقاومـة للمـرض المطلوب التربية لـه. ويذكر Jorgensen (1983) أنـه أمكن الحصـول علـى طفـرة مـن نبـات الشـعير مقاومـة للبيـاض الـدقيقى، وذكـر ان حـدوث الطفـرة لمقاومـة المـرض قـد صـاحبه نقـص فـى محصـول النبـات المطفـر بالمقارنة بالنباتات العادية من الشعير .

ب- طرق حديثة للاستفادة من الجينات المسئولة عن المقاومة :

يـذكر Hayward وآخـرون (1993) أن اسـتخدام طـرق الوراثـة الجزيئية يجعل هناك امكانية لعزل ونقل جينات محددة من كائن ما وادخالها الـى النبـات العائـل (transformation)، وأن هذه العمليـة تكون أكثـر تعقيـدا فـى المحاصـيل ذات الفلقـة الواحـدة عنهـا فـى ذات الفلقتـين . وأهـم مشـكلة تواجـه عمليـة الاسـتفادة مـن الجينـات الوراثيـة هـى صـعوبة ايجـاد الجينـات المرغوبـة المسـئولة عـن المقاومـة فـى الكـائن المعطـى أو المـانح

donor organism. وفى الوقت الحالى هناك عدة طرق مبشرة فى مجال البحث عن جينات المقاومة من الطرق الحديثة وقد قام بتلخيصها Niks وآخرون (1993) Salamini and Motto (1993) على النحو التالى :

1- **امكانية عزل الجينات المسئولة عن تكوين ميكانيكية دفاعية واسعة** والتى تعمل على تكوين مواد معينة بكمية كافية أثناء نمو النسيج النباتى وتلعب دور هام فى احداث المقاومة الوراثية وذلك من خلال عزل الحمض النووى أر أنه ايه الرسولى (mRNA) ويتم نسخه الى الحمض النووى المكمل (Complementry DNA) وحدوث عملية كلونة cloning ونقله الى النبات العائل . وأوضح مثال على ذلك تلك الدراسة التى قام بها Gatehouse وآخرون (1980) وكذلك Hilder وآخرون (1987) وذلك بعزل الجين المسئول عن مثبطات التربسين فى لوبيا العلف ومن المعروف ان هذه المثبطات تمثل antimetabolic agents وتعمل ضد حشرات كثيرة منها *Callosobruchus maculatus* وتلك التى تتبع أجناس *Heliothis , Spodoptere , Diabrotica*.

2- **امكانية عزل الجينات المسئولة عن انتاج التوكسينات فى الميكروبات** ونقلها بعد ذلك الى النبات العائل وأوضح مثال عن ذلك هو بكتريا *Bacillus thuringiensis* حيث يمكن لهذه البكتريا انتاج مادة سامة تعمل ضد الحشرات . ويذكر Vaeckوآخرون (1987) انه امكن عزل مثل هذه الجينات وتم ادخالها الى نبات الدخان ليجعل نباتات الدخان المحولة وراثيا transformed ذات مقدرة على تحمل هجوم حشرة horn worm (*Manduca sexta*) .

3- **نقل أجزاء من الجينوم الفيرسى Viral genome** والتى تؤدى الى زيادة مقاومة النبات للفيروسات . وأوضح مثال على ذلك هو دمج جينات viral capsid proteinالى الجينوم النباتى ، والمقاومة الناتجة فى هذه الحالة يطلق عليها coat protein- mediated resistance وهى تكون موجهة وفعالة ضد الفيروسات التى تم عزل الجين منها (Beachy وآخرون 1990) .

وهناك طريقة آخرى تتلخص فى ادخال الحمض النووى DNA المكمل (Complementary DNA of small satellite RNAs) الى جينوم النبات العائل ، وذكر Harrison وآخرون 1987 انه امكن استخدام هذه الطريقة فى زيادة مقاومة نبات الدخان لفيرس تبرقش الخيار . وذكر ايضا Hemenway وآخرون 1988 انه امكن استخدام Antisense RNAs (الحمض النووى أر أن ايه المضاد المعنى) للعديد من الفيروسات فى تحقيق الحماية من العدوى الفيروسية .



الفصل الخامس
المسببات المرضية

يتناول هذا الفصل الموضوعات التالية:

+ كيف تحدث المسببات المرضية تأثيراتها

+ أسباب حدوث الاختلافات الوراثية فى المسببات المرضية:

1- الإتحادات الجديدة
2- تعدد واختلاف الأنوية داخل خلايا الطفيل
3- التكاثر شبه الجنسى
4- الطفرات
5- الأقلمة السيتوبلازمية
6- التأقلم للوسط الغذائى

+ طرق إجراء العدوى بالمسببات المرضية

كيف تحدث المسببات المرضية تأثيراتها

لكى يكون للطفيل القدرة على مهاجمة النبات العائل فإن عليه ان يواجه الميكانيكيات الدفاعية المختلفة التى يتسلح بها النبات والتى تعوق عملية اختراق الطفيل أو انتشاره واستقراره داخل الخلايا النباتية. لذلك نجد ان الطفيليات التى توصف بأنها مرضية أو ذات ضراوة Virulence أو Agrressive تمتلك مجموعة من الخصائص تمكنها من كسر دفاعات النبات العائل والتغلب عليها سواء كانت دفاعات تركيبية او كيماوية حيوية . ومثل هذه الطفيليات تقوم بإفراز مجموعة من الانزيمات Enzymes أو المواد السامة Toxins تكون مسئولة عند حدوث المرض وظهور الأعراض المرضية المميزة له . وسوف نلقى الضوء على الوسائل التى تجعل الطفيليات لها المقدرة على مهاجمة النبات وحدوث المرض .

أولاً: الأنزيمات Enzymes

فقد وجد أن المسببات الفطرية لها المقدرة على افراز مجموعة من الأنزيمات تلعب دوراً هاماً فى عملية اختراق الطفيل واستقراره داخل انسجة النبات العائل وتكون مسئولة عن إحداث المرض ، وفيما يلى عرض لأهم انواع هذه الانزيمات :

أ- الأنزيمات المحللة للسيليلوز

Cellulose- degrading enzymes

حيث أن هناك بعض الفطريات لها القدرة على انتاج انزيمات تقوم بعملية تحلل لسيليلوز الجدر الخلوية مثل endo-1,4-b-Dglucanase.

ب- الأنزيمات المحللة للكيوتين Cutin- degrading enzymes

أن طبقة الكيوتيكل تمثل أول حاجز أمام الطفيل عند اختراقه للنبات العائل وعلى الطفيل ان يتغلب على هذا الحاجز قبل الدخول والاستقرار داخل خلايا النبات . وقد لوحظ ان الكثير من الطفيليات تقوم بإنتاج انزيمات لها المقدرة على تحلل طبقة الكيوتين حيث اتضح ضرورة وجود cutinases حتى يسهل دخول المسببات الفطرية لخلايا العائل .

جـ- الأنزيمات المحللة للبكتين: Pictin- degrading enzymes

بعض الطفيليات تقوم بإفراز انزيمات تحلل البكتين الموجود فى الصفيحة الوسطى للخلايا حتى يمكنها اتمام عملية الاختراق penetration .

د- الأنزيمات المحللة للفيتوالاكسينات :

Phytoalexins- degrading enzymes

فكما سبق القول ان الفيتوالاكسينات هى مواد ذات وزن جزيئى صغير يقوم النبات بإفرازها بعد حدوث عملية العدوى وتعمل كمضادات للطفيليات وتلعب دوراً هاماً فى احداث المقاومة الوراثية . ولكى يكون للمسبب المرضى القدرة على احداث العدوى فعليه ان يتغلب على هذا الحاجز الكيماوى فى النبات ، ويتم ذلك من خلال :

1- يتم ابطال فعل هذه المواد وجعلها فى صورة غير فعالة ، وقد يكون ذلك هو سبب تحمل العائل للمرض disease tolerance فى بعض الأمراض (عن VanEtten وآخرون 1989) .

2- حدوث تحوير فى تركيب البروتين للتغلب على هذا المانع الكيماوى .

3- وقف تكوين الفيتوالاكسينات عن طريق وضع عقبات فى الممر الحيوى الخاص بتكوين هذه المواد .

ثانياً: التوكسينات Toxins

يقصد بالتوكسين Toxin المادة التى ينتجها الكائن الممرض أو تنتج من تفاعله مع النبات العائل ويكون لها تأثير سام على خلايا العائل حتى فى حالة وجودها بتركيزات قليلة جداً . وأمكن التعرف على الكثير من هذه التوكسينات، فعلى سبيل المثال ينتج فطر *Alternaria solani* المسبب لمرض الندوة المبكرة فى الطماطم توكسين يعرف باسم (Altarnaric acid)، وينتج فطر *Pyricularia oryza* المسبب لمرض اللفحة فى الأرز توكسين Piricularin ، وكذلك فطريات الذبول *Fussarium spp* المسببة لأمراض الذبول توكسين Fusaric acid .

وتؤثر هذه التوكسينات على نفاذية الجدر الخلوية وبعض السموم لها خاصية منجلية حيث تحور او تغير التفاعلات الانزيمية التى تحدث فى بروتوبلازم الخلايا كما انها قد تقوم بدور المضادات لنواتج التمثيل الغذائى فى الخلية .

وقد تكون هذه السموم متخصصة Host specific toxins حيث تحدث تأثيراتها بفعالية عالية فى النبات حتى لو وجدت بكميات ضئيلة جداً ، ومن امثلتها توكسين Victorin. وقد تكون غير متخصصة non specific toxin حيث تؤثر على عدد كبير من الاجناس والأنواع النباتية مثل Alternaric acid ، Fusaric acid.

ويمكن تقسيم هذه التوكسينات حسب المنشأ وتأثيرها على النبات العائل الى ثلاثة انواع كما يلى :

أ- **Pathotoxin**

وهـى المسـبب الحقيقـى لحـدوث المـرض وظهـور الأعـراض المرضـية المميزة على النبات وهى من انواع السموم المتخصصة مثل Victorin .

ب- Vivotoxin

لا تكون هى المسبب للمرض وتسبب جزء من الأعراض المرضية التى تظهر علـى النبـات وهـى سـموم غيـر متخصصـة مثـل Pericularin و Fusaric acid .

جـ Phytotoxin

تسبب عدد قليل من الأعراض المرضـية أو قد لا تنشأ أى أعراض وهى سموم غير متخصصة مثل Alternaric acid .

أسباب حدوث الاختلافات الوراثية فى المسببات المرضية

من أهم العقبات التى تواجه مربى النبات أثناء قيامه بإجراء برنامج التربية لمقاومة مرض ما أو حشرة معينة هو ظهور السلالات الفسيولوجية الجديدة للطفيل أو للحشرة ، فإذا قام المربى باستنباط صنف جديد مقاوم لسلالة معينة من الطفيل نجد بعد فترة من الزمن ظهور سلالات اخرى من نفس المسبب المرضى ربما تكون أكثر ضراوة ومقدرة على احداث الإصابة المرضية من السلالة الأولى. ومن هنا تأتى أهمية دراسة الأسباب التى تؤدى الى حدوث الاختلافات الوراثية داخل المسببات المرضية سواء كانت فطريات ، بكتريا ، فيروس أو غيرها .

أولاً: أسباب حدوث الاختلافات فى الفطريات :

تتعدد أسباب ظهور السلالات الفسيولوجية الجديدة من الفطريات ويمكن حصرها فيما يلى :

1- الاتحادات الجديدة Recombinations

أثبتت كثيرا من الدراسات ان حدوث تهجين بين سلالتين من سلالات الفطريات التى لها طور جنسى تؤدى الى ظهور سلالات جديدة قد يكون لبعضها مقدرة على احداث العدوى اكبر من السلالات الابوية . فمثلا فى مرض صدأ الساق فى القمح والمتسبب عن الفطر *Puccinia graminis tritici* وجد أن السلالة 36 عند تهجينها مع السلالة 9 فإن الجيل الأول كان عبارة عن السلالة 17 وأعطى الجيل الثانى 11 سلالة جديدة . وهذا يوضح ان التكاثر الجنسى فى فطر صدأ الساق فى القمح له المقدرة على

انتاج سلالات جديدة تختلف فى مقدرتها على احداث الاصابة المرضية .
وايضا فى مرض التفحم فى الذرة الشامية والمتسبب عن الفطر *Ustilago maydis* فإن التهجين بين سلالات ابوية مختلفة وراثيا قد أدى الى ظهور سلالات احادية الأنوية ذات قدرة متباينة على مهاجمة نباتات الذرة الشامية .

2- تعدد واختلاف الأنوية داخل خلايا الطفيل

Heterocaryosis

يقصد بهذه الظاهرة وجود نواتين أو أكثر مختلفتين وراثيا داخل خلية واحدة من ميسليوم الطفيل . وطبيعى أنه عند اتحاد هذه الأنوية المختلفة وراثيا مع بعضها فإننا نتوقع أن تنشأ خلية ذات نواتين بها اتحادات وراثية جديدة مختلفة different genetic combination. وتحدث هذه الظاهرة فى فطريات الأصداء والتفحمات وكذلك *Alternaria solani* ، *Fusarium solani* ، *Phytophsora infestans* ، وغيرها . وتلعب هذه الظاهرة دورا هاما فى احداث التباينات داخل الكائنات الممرضة .
وأسباب حدوث تعدد واختلاف الأنوية يرجع الى :

أ- حدوث طفرة mutation فى أى خلية ثنائية أو عديدة الأنوية فى الطفيل تؤدى الى ظهور خلية تحتوى على انوية مختلفة وراثيا .

ب- تكوين جراثيم جنسية ثنائية الأنوية من الممكن ان يؤدى الى حالة تعدد اختلاف الانوية داخل الخلية .

جـ- وجود ظاهرة Anastomosis وفيها يتم اتحاد لهيفات نفس النوع ثم تتحرك نواة أو اكثر الى احد الخلايا المتحدة وتتكون حالة من الانوية العديدة المختلفة وراثيا .

3- التكاثر شبه الجنسى Parasexuality

ويقصد بها تكوين اتحادات وراثية جديدة بوسائل غير تلك المتعارف عليها فى الانقسام الميوزى حيث لا يحدث تناسق بين الاتحادات الجديدة وعمليات الانعزال والاختزال . كما يطلق ايضا على كل الوسائل التى يترتب عليها تكوين اتحادات جديدة غير ميوزية. ففى الفطريات الناقصة وحيث لا توجد دورة تكاثر جنسى تحدث الاختلافات فى هذه الفطريات عن طريق احتواء الخلية على انوية مختلفة ثم حدوث اتحادات جديدة للجينات فى الخلايا الجسمية من خلال دورة يطلق عليها الدورة الشبيه بالجنسية parasexual cycle والتى تشمل على :

أ- حدوث ظاهرة Heterocaryosis

ب- حدوث اتحاد بين نواتين مختلفتين لتكوين انوية ثنائية المجموعة الكروموسومية خليطة وراثيا فى الخلايا الجسمية وذلك بمعدل واحد لكل 10 ألف خلية .

جـ- قد يحدث عبور جسمى بمعدل يقترب من واحد فى المائة من الأنوية ثنائية المجموعة الكروموسومية ويترتب على ذلك تكوين اتحادات جديدة وانعزالات.

د- تحدث عملية استيحاد haplodization للانوية الثنائية الموجودة بالخلايا الخضرية ويحدث ذلك بمعدل واحد لكل الف خلية ثنائية المجموعة الكروموسومية ويؤدى ذلك الى تكوين نويات احادية المجموعة الكروموسومية .

ويترتب على كل هذه العمليات تكوين ثلاثة طرز من الأنوية كما يلى:

1- مكررات replicates للانوية ثنائية المجموعة الكروموسومية.

2- أنوية حدث بها اتحادات جديدة .

3- أنوية حدث بها انعزالات .

ويترتب على هذه الدورة حدوث اتحادات وراثية جديدة كالتى تحدث للدورة الجنسية المنتظمة مما يزيد من الاختلافات الوراثية فى المسببات الممرضة والتى يترتب عليها ظهور سلالات مرضية قد تكون اكثر ضراوة على النبات العائل (Allard 1960 ، Singh 1984) .

4- الطفرات Mutations

تلعب الطفرات دوراً هاماً فى استحداث التباينات الوراثية فى المسببات المرضية ، فقد لوحظ وجود هذه الظاهرة فى فطريات كثيرة منها *Ustilago zeae* و *Phtohpthora infestans* ، *Puccinia graminis tritici* وغيرها . وتختلف المسببات المرضية الناتجة من الطفرات فى شكلها المورفولوجى والمقدرة على احداث الإصابة المرضية .

5- الأقلمة السيتوبلازمية Cytoplasmic adaptation

يذكر Singh 1984 ان بعض الكائنات الممرضة لها مقدرة على القيام بتفاعلات كيميائية حيوية لم تكن قادرة عليها من قبل ونتيجة لذلك فإن هذه الطفيليات يمكنها الاستفادة من بروتوبلازم العائل النباتى، ويعرف ذلك بالتأقلم على نوع جديد من السيتوبلازم . ومن هذا التأقلم توجد 3 صور :

أ- تغير اكتساب المسبب المرضى القدرة على تحمل تأثيرات المواد السامة .

ب- يمكن للمسبب المرضى الاستفادة من وجود نوع جديد من السيتوبلازم .

جـ تغير فى المقدرة على احداث الإصابة المرضية virulence.

6- التأقلم للوسط الغذائى Adaptation to substrate

يقصد بذلك قدرة الكائن الدقيق على ان يتفاعل ايجابيا مع عوامل محددة موجودة فى البيئة وبذلك يحدث تحسين فى مقدرته على النمو والتكاثر ، فإذا نمت سلالة من الفطر لمدة عدة اجيال على عائل مقاومة فإنها تكتسب مقدرة تامة على احداث العدوى لهذا العائل فقط كنتيجة للاتصال وبدون ان يحدث تكاثر جنسى لهذا المسبب المرضى. ويعبر عن ذلك بان الفطر اصبح متأقلم بالنسبة لهذا العائل. وقد ترجع التغيرات التى تحدث للكائن الدقيق خلال عملية الأقلمة استجابة للبيئة الغذائية اى ما يلى :

أ- حدوث طفرات Mutation .

ب- حدوث ظاهرة Heterocaryosis أى ظهور انوية عديدة مختلفة وراثيا فى الكائن الممرض .

جـ حدوث تغيرات فى تركيب مواد التمثيل الغذائى الموجودة خارج النواة أو الانزيمات أو الميتاكوندريا أو الريبوسومات وغيرها .

ثانيا: اسباب حدوث الاختلافات الوراثية فى البكتريا والفيروسات:

تتعدد ايضا اسباب حدوث الاختلافات الوراثية فى البكتريا والفيروسات وهناك كثير من الدراسات أثبتت أهمية كل من الطفرات mutations والاتحادات الجديدة recombinations فى حدوث

الاختلافات داخل البكتريا بينما تكون الطفرات هى اساس حدوث الاختلافات الوراثية فى الفيروسات .

طرق اجراء العدوى الصناعية بالمسببات المرضية
Artificial Inoculation

لنجاح برنامج التربية لمقاومة الأمراض والحشرات يجب الاهتمام بتعريض النباتات الى المسببات المرضية المختلفة سواء كان ذلك بصورة طبيعية أو باحداث العدوى الصناعية وذلك لسهولة التمييز بين التراكيب الوراثية المقاومة والحساسة للمرض ، ويجب اختبار النسل للنباتات المقاومة للتحقق من الطبيعة الوراثية للمقاومة . ولما كان انتشار المرض طبيعيا لا يحدث فى الحقل كل سنة فإن المربى يلجأ الى احداث العدوى الصناعية سواء كان ذلك فى الحقل أو الصوبة. واختبارات الحقل تتميز بان النبات العائل يتم اختباره ضد سلالات الطفيل السائدة فى الحقل بينما تتميز اختبارات الصوبة بكونها موجهة ضد سلالة مرضية معينة كما انها توفر تحكم دقيق فى درجة الحرارة والرطوبة النسبية المناسبة لانتشار المسبب المرض ، ويجب ان تتشابه العدوى الصناعية بقدر الامكان مع العدوى الطبيعية Artificial inoculation should closely simulate natural infections ويجب أن تعامل جميع الاصناف المختبرة بطريقة منتظمة uniform manner ، كما يجب زراعة السلالات مع اصناف مقاومة واخرى حساسة للاصابة بالمرض كمقارنة checks ، (Poehlman and Sleper ، 1995) .

وتتعدد طرق إجراء العدوى الصناعية فى النباتات المختلفة حسب نوع المرض ووقت إجراء العدوى الصناعية وسوف نلقى الضوء على أهم هذه الطرق على النحو التالى (Poehlman and Sleper ، 1995) :

1) إجراء العدوى الصناعية للأمراض الكامنة فى التربة :

هناك العديد من الأمراض التى تعيش فى التربة وتدخل الى النبات العائل عن طريق الجذور أو اجزاء النبات الموجودة اسفل سطح التربة root or other underground parts مثل أمراض الذبول وغيرها . وهنا يجب زراعة الأصناف المختبرة فى تربة زراعية ينتشر فيها المسبب المرضى بصورة طبيعية أو تتم زراعة الصنف فى تربة معقمة أضيف اليها مصدر العدوى الخاص بالطفيل . والطريقة الثانية أفضل من الأولى فى تقييم الأصناف المختلفة. ويتم اختبار العدوى لمرض الذبول المتأخر فى الذرة الشامية والذى يسببه فطر *Cephalosporium maydis* بهذه الطريقة حيث تتم تنمية المسبب المرضى فى بيئة صناعية واضافتها الى التربة عند الزراعة .

2) عدوى الأوراق :

من المعروف ان كثير من المسببات المرضية مثل الأصداء تدخل النبات عن طريق الفتحات الطبيعية مثل الثغور stomata او العديسات lenticles أو الجروح wounds والتى تحدث نتيجة هجوم الحشرات أو أثناء عمليات الخدمة المختلفة . وفى هذه الحالة يتم تجميع الجراثيم الجافة من النباتات المصابة وتعفيرها على أوراق النباتات المختبرة أو يتم رش معلق الجراثيم على النبات . ولزيادة شدة وفعالية العدوى تتم زراعة النباتات تحت ظروف بيئية متحكم فيها بحيث تكون درجة الحرارة مثلى لنمو المسببات المرضية . ويمكن زراعة النباتات القابلة للاصابة بجوار النباتات المختبرة فى الحقل . وقد تختبر النباتات لمرضين أو اكثر فى نفس الوقت وذلك بعدوى الأوراق على فترات متعاقبة ومع تكوين الأوراق الجديدة بالنبات .

3) عدوى الأزهار :

هناك بعض بعض الأمراض التى تصيب الأزهار مثل التفحم السائب فى القمح والشعير وفيها يتم إجراء العدوى الصناعية عن طريق ادخال جراثيم ناضجة الى الازهار وقت تفتحها during anthesis. والجراثيم الجافة يمكن ادخالها بواسطة الملقط أو إبرة حقن forceps or hypodermic needle أو يمكن عمل معلق من جراثيم المسبب المرضى وتحقن به الازهار .

4) عدوى البذور :

كما هو الحال فى أمراض التفحم المغطى فى النجيليات حيث تتم معاملة البذور بجراثيم المسبب المرضى قبل عملية الانبات وقد تعفر البذور بالجراثيم الجافة dry spores (كما فى التفحم المغطى فى القمح والذرة الرفيعة) او قد يتم غمر البذور لفترة قصيرة فى معلق الجراثيم spore suspension تحت تفريغ (فى حالة تفحم الشعير) .

5) طرق العدوى بالأمراض الفيروسية:

تنتقل كثيرا من الأمراض الفيروسية الى النبات العائل اما عن طريق الحشرات insect transmitted viruses او بالنقل الميكانيكى mechanical transfer . وفى الحالة الأولى يتم إجراء العدوى الصناعية بتجميع الحشرات (غالبا المن) من النباتات المصابة ونقلها الى النباتات السليمة ، وفى الحالة الثانية يتم وضع العصير المستخلص من نسيج النبات المصاب على اسطح الاوراق السليمة مع اجراء عملية حك أو استخدام مسحوق الكربوراندم (Poehlman and Sleper 1995) .



الفصل السادس

أسباب فقد المقاومة الوراثية

اسباب فقد المقاومة الوراثية :

من المعروف ان مربى النبات يهدف دائما الى انتاج اصناف مقاومة للأمراض والحشرات بالاضافة الى الصفات المحصولية الاخرى ، ولكن بعد فترة من انتاج الصنف الجديد نجد ان هذا الصنف اصبح اقل قدرة على مقاومة المرض المنتشر ويصبح بعد ذلك حساس للاصابة بهذا المرض . معنى ذلك ان التربية لمقاومة الأمراض أو الحشرات لا تستمر طويلا مع الصنف الجديد بل تفقد بعد فترة من زراعته فى الحقل ويعزى هذا الفقد فى المقاومة الوراثية الى العديد من الاسباب يمكن تلخيصها على النحو التالى (Singh 1984):

1- ربما يرجع فقد المقاومة الوراثية الى الاهمال الذى يحدث فى عملية الاختبار اثناء برنامج التربية .

2- الانعزالات التى قد تحدث فى الأصناف المنزرعة أو الطفرات أو الخلط الوراثى وغيرها من الاسباب التى تؤدى الى تغيير التركيب الوراثى فى النبات العائل .

3- حدوث الاختلافات الوراثية فى الكائنات الممرضة ، وقد سبق دراسة الاسباب التى تؤدى الى حدوث هذه التباينات .

ونلاحظ هنا أن الأصناف المختبرة قد لا يحدث لها عدوى بجميع السلالات المرضية السائدة فى المنطقة أو قد تنشأ سلالات مرضية جديدة بعد استنباط الصنف وكل ذلك يعمل على مهاجمة النبات العائل وبالتالى تتأثر المقاومة الوراثية . لذلك فإن زراعة صنف واحد فى منطقة

معينة لمدة طويلة من شأنه ان يساعد على ظهور مثل هذه السلالات المرضية . وتجنبا لهذه المشكلة يفضل زراعة اكثر من صنف فى منطقة معينة للمحافظة على المقاومة الوراثية للمسببات المرضية لاطول فترة ممكنة .



الفصل السابع
التربية لمقاومة الحشرات

يتناول هذا الفصل الموضوعات التالية:

+ **خصائص التربية لمقاومة الحشرات**
+ **طبيعة المقاومة فى الحشرات**

خصائص التربية لمقاومة الحشرات

من الملاحظ ان التربية لمقاومة الحشرات لم تلقى نفس الاهتمام الذى وجهه المربين الى المسببات المرضية كالبكتريا والفطريات وغيرها ... الا أن الطرق الأساسية للتربية لمقاومة الحشرات لا تختلف عنها فى حالة التربية لمقاومة الأمراض. فقد ذكر Poehlman and Smartt (1999) ان التربية لمقاومة الحشرات تحتاج الى ثلاثة نقاط هى :

1- تحديد جينات المقاومة .

2- نقل هذه الجينات الى الأصناف المتأقلمة باستخدام التهجين .

3- تقييم الأصناف فى وجود عشائر الحشرات حتى يمكن التمييز بين النباتات المقاومة وتلك الحساسة للاصابة بالحشرة .

وعموما يمكن تحديد أهم الفروق بين التربية لمقاومة الحشرات والتربية لمقاومة الأمراض فيما يلى :

1- تتميز الحشرات بحركتها السريعة عكس المسببات المرضية.
2- تعتمد الحشرات على بعض الوسائل مثل قرون الاستشعار فى الوصول الى النبات بينما تعتمد مسببات الأمراض على الصدفة فى ايجاد العائل النباتى .
3- يظهر فى الحشرات سلالات فسيولوجية بمعدل أقل من الكائنات الممرضة .
4- تعتمد الحشرات على التكاثر الجنسى وبعض حالات parthenogenesis بينما تعتمد المسببات المرضية على طرق غير جنسية .
5- يصعب فى حالة الحشرات إجراء العدوى الصناعية عكس الحال مع المسببات المرضية .
6- تعتبر المسببات المرضية اكثر تخصصا للعائل بينما يمكن للحشرة ان تتغذى على أوراق نباتات حتى لو كانت أقل قبولا لها .
7- دورة حياة الحشرات اكثر تعقيدا منها فى الكائنات الممرضة.
8- تعتبر طرق التربية للحشرات بصفة عامة اكثر تعقيدا عن التربية لمقاومة الأمراض .

وجدير بالذكر أن ميكانيكية حدوث الاختلافات الوراثية داخل الحشرات قد سجلت فى حشرات كثيرة وأوضح الأمثلة على ذلك تلك الدراسات التى اجريت على حشرة الهسيان hessian fly التى تهاجم نباتات القمح ، فقد وجد أن هناك سلالات فسيولوجية عديدة لهذه الحشرة ،

فصنف القمح Dawson كان مقاوما لهذه الحشرة فى كاليفورنيا ولكنه قابلا للاصابة بها فى منطقة حزام الذرة Corn Belt.

طبيعة المقاومة فى الحشرات

توجد هناك ثلاثة ميكانيكيات يمكن من خلالها للنباتات مقاومة الحشرات السائدة وقد تعزى المقاومة الى واحدة أو اكثر من هذه الميكانيكيات ويمكن توضيح ذلك فيما يلى (عن Painter 1951) :

أ- عدم التفضيل Non- preference

وفيها نجد أن النباتات المقاومة للحشرات تمتلك مجموعة خصائص يجعلها لا تلائم الحشرة من حيث التكاثر والمأوى والتغذية ، ومن الخصائص النباتية التى تؤدى الى وجود ظاهرة عدم التفضيل اللون والرائحة وزاوية الورقة والطعم وغير ذلك من الصفات التى لا تجذب

الحشرات الى النبات وبالتالى تلعب دورا هاما فى احداث مقاومة النباتات للحشرات (Fehr 1987) .

وفى عام 1978 اقترح كلا من Kogan and Ortman اصطلاح Antixenosis ليحل محل non- preference حيث أن الاصطلاح الاخير يعبر عن التفاعل الذى تبديه الحشرة وليس الى صفات النبات المختلفة .ويقصد بالـ Antixenosis الميكانيكية التى تمكن النبات من طرد الحشرة ومنع زيادة أعداد الحشرات على النبات العائل .

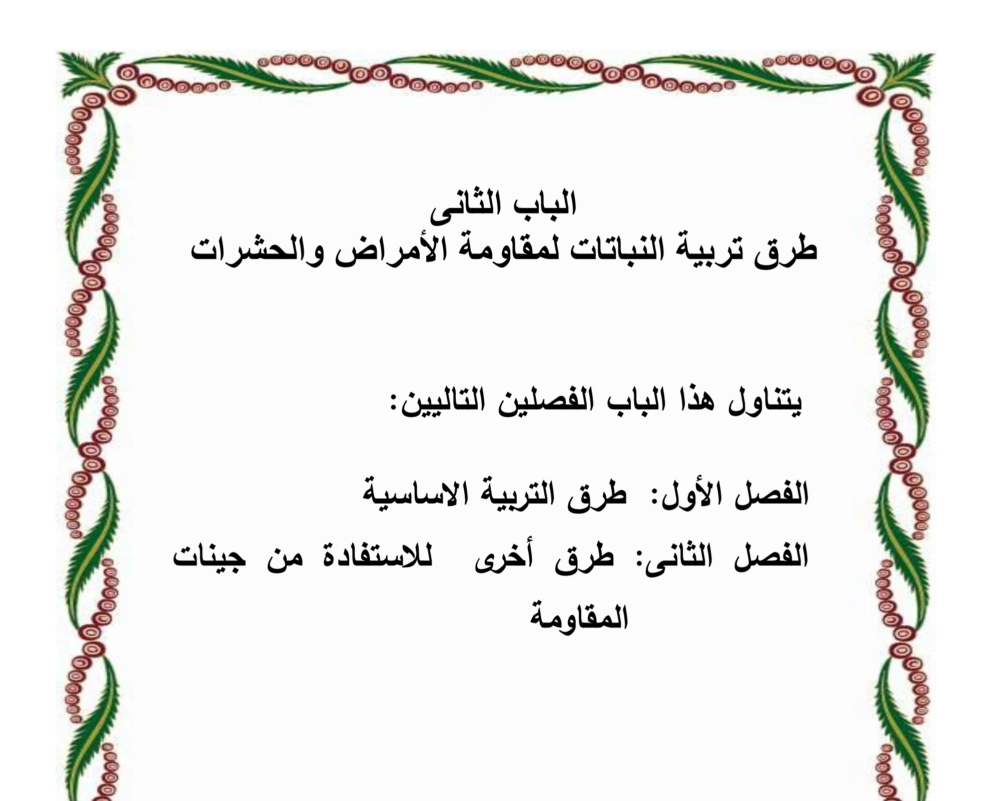
ب– التضادية الحيوية Antibiosis

ويقصد بها جميع التأثيرات المعاكسة التى يظهرها النبات وتؤثر على تطور وتكاثر الحشرة عندما تتغذى على هذا النبات . وقد يشمل ذلك على تثبيط النمو ، تحوير دورة الحياة ، صغر حجم الحشرة وغير ذلك ... وينظر البعض الى التضادية الحيوية على انها صورة حقيقة لمقاومة النبات للحشرات . ومن أمثلة ذلك مقاومة أصناف الأرز لحشرة Brown plant hopper .

جـ– القدرة على التحمل Tolerance

وفيها يمكن للنبات أن ينمو ويتكاثر برغم وجود عشيرة الحشرات دون حدوث ضرر كبير له ، والقدرة على التحمل لا تمنع ظهور أعراض أو اصابات نتيجة مهاجمة الحشرة للنباتات . ومن المعروف أن قوة نمو النباتات تكون مرتبطة بقدرتها على تحمل الاصابة فالهجن الفردية فى الذرة الشامية والذرة الرفيعة تتميز بقدرتها العالية على تحمل الاصابة بحشرة (Chinch bug) أكثر من الأباء الحساسة لهذه الحشرة . وقدرة النبات على تكوين أشطاء جديدة أو أوراق أو سيقان تؤثر على تحمله للاصابة

الحشرة وتعمل على تعويض النقص الحادث فى المحصول ، كما أن متانة انسجة الساق تكون مرتبطة بدرجة تحمل النبات للاصابة الحشرية خصوصا الثاقبات . كما ان توارث القدرة على التحمل تعتبر معقدة complex فى كثير من الحالات ويفترض انه يتحكم فيها العديد من الجينات الوراثية polygenes . ويذكر El- Leithy (2000) أن الفرق الأساسي بين تحمل الإصابة Tolerance وكلا من antixenosis and antibiosis ان تحمل الاصابة يظهر نتيجة استجابة النبات لهجوم الحشرة بينما فى الحالتين الاخيرتين يظهر تفاعل الحشرة نتيجة وجود بعض الخصائص المورفولوجية والتركيبية فى النبات العائل .





الفصل الأول
الطرق الاساسية للتربية

يتناول هذا الفصل الموضوعات التالية:

+ **الاستيراد وجمع الأصول الوراثية**
+ **طرق تربية المحاصيل ذاتية التلقيح**
+ **طرق تربية المحاصيل خلطية التلقيح**

طرق تربية النباتات لمقاومة الأمراض والحشرات :

تتعدد طرق تربية النباتات لمقاومة الأمراض والحشرات ويتوقف اختيار طريقة التربية المناسبة على نوع النبات المراد تحسينه وطبيعة التلقيح فيه اذا ما كان ذاتى التلقيح او خلطى التلقيح . وسوف نتناول طرق التربية التقليدية ببساطة وبعيدا عن التفصيل على النحو التالى :

أولا: الاستيراد وجمع الأصول الوراثية :

نقطة البداية فى برنامج تحسين اى نبات هى وفرة التصنيفات الوراثية فى هذا النبات والتى تتيح للمربى امكانية اجراء عمليات التربية والانتخاب ، ولذلك يلجأ المربى الى الاستيراد وجمع الاصول الوراثية من المصادر المختلفة ليبدأ بها برنامج التربية . ويمكن للمربى ان يستورد اما أصناف منزرعة أو أنواع نباتية برية لها صفات مرغوبة ، وهذه المستوردات يمكن الاستفادة بها مباشرة كأصناف جديدة تتميز بالقدرة المحصولية العالية بالإضافة الى صفة المقاومة لمرض ما أو حشرة معينة أو ادخالها كآباء فى برامج التهجين مع غيرها من الأصناف لإدخال صفات المقاومة للأمراض والحشرات المطلوبة .

مصادر الاستيراد :

يمكن للمربى ان يلجأ الى مناطق نشأة المحاصيل لاستيراد ما يلزمه من تراكيب وراثية ، وهناك الكثير من المصادر الأخرى كما يلى :

1- المنظمات العالمية والتى تحتفظ بالأصول الوراثية المتنوعة للمحاصيل المختلفة منها :-

منظمة الأغذية والزراعة	**FAO**
مركز بحوث الأرز الدولي	**IRRI**
المركز الدولى لتحسين القمح والذرة	**CIMMYT**

المركز الدولى للبحوث الزراعية فى المناطق الجافة **ICARDA**

2- عن طريق البعثات الاستكشافية Exploration

3- عن طريق الهدايا Gifts من محطات ومراكز البحوث المختلفة.

تداول المستوردات :

عند استيراد الأصول الوراثية يجب ان تفحص فى الحجر الزراعى للتأكد من خلوها من مسببات الأمراض والآفات المختلفة وبعد ذلك يتم تسجيل وتبويب كافة المعلومات عن هذه المستوردات فى سجلات خاصة ، كما يتم زراعتها فى اكثر من موقع لعدة سنوات مع الأصناف المحلية بشرط إجراء العدوى الصناعية بالمسببات المرضية المختلفة لإجراء عمليات التقييم لهذه الأصول الوراثية فى صفاتها الإنتاجية ومقاومتها للأمراض والحشرات السائدة .

طرق تربية النباتات الذاتية التلقيح :

2- الانتخاب Selection: يلجأ المربى الى طريقة الانتخاب اذا ما توفرت جينات المقاومة للأمراض والحشرات فى الأصناف التجارية للمحصول ويتم ذلك من خلال :

أ- **الانتخاب الإجمالي Mass Selection**

يقصد بالانتخاب الإجمالي هو الانتخاب المظهرى لافضل النباتات والتى تحمل الصفات المرغوبة خصوصا المقاومة للأمراض والحشرات وجمع البذور الناتجة معا واستعمالها كتقاوى للجيل التالى وتكرار ذلك حتى تصبح النباتات متجانسة للصفات المرغوبة . ويعتمد نجاح الانتخاب الاجمالى على وجود الاختلافات الوراثية فى العشيرة المراد تحسينها . والانتخاب الاجمالى غير شائع الأن فى تربية المحاصيل الذاتية التلقيح

واصبح قاصرا على استخدامه كوسيلة للحفاظ على نقاوة الأصناف المنزرعة Seed Purification.

ب-انتخاب السلالة النقية Pure line Selection

يقصد بالسلالة النقية النسل الناتج من نبات واحد اصيل ذاتى التلقيح أو عدة أفراد ذات تركيب وراثى واحد ولم يطرأ عليها اى تغيير فى تركيبها الوراثى . والانتخاب داخل السلالة النقية لا يجدى لانها اصيلة وذات تركيب وراثى واحد، ولكن اذا حدث للصنف خلط ميكانيكى او تهجين طبيعى او حدوث طفرات فهذه الاسباب تؤدى الى وجود بعض الاختلافات داخل الأصناف النقية من النباتات ذاتية التلقيح الأمر الذى يجعل الانتخاب فيها مفيد .

ومن مزايا هذه الطريقة امكانية استخدامها لتحسين الأصناف المحلية للمحاصيل المنزرعة كما انها اسهل من طريقة التهجين والنباتات الناتجة تكون على درجة عالية من التجانس ، ولكن يعاب عليها انه لا يترتب عليها تكوين تراكيب وراثية جديدة فليست هناك فرصة لادخال صفات لا تكن موجودة فى العشيرة الاصلية كما ان النباتات الناتجة منها تكون اقل قدرة على التأقلم لمدى واسع من الظروف البيئية .

3- التهجين Hybridization

الغرض من عملية التهجين هو تجميع فى صنف واحد الصفات المرغوبة المختلفة خصوصا المقاومة للمرض او الحشرة السائدة الموجودة فى اثنين او اكثر من السلالات او الأصناف ، ويلجأ المربى الى استخدام طريقة التهجين فى التربية لمقاومة الأمراض والحشرات اذا لم تتوفر جينات المقاومة فى الأصناف التجارية حيث يقوم بادخال جينات المقاومة الى الأصناف التجارية من مصادر اخرى قد تكون اصناف برية أو غيرها والتى غالبا ما تكون رديئة فى صفاتها الآخرى عدا كونها مقاومة للأمراض أو الحشرات ويشترط فى الأباء المقاومة التى تدخل فى برنامج التهجين ان تكون المقاومة فيها موجهة الى اكبر عدد من سلالات الطفيل وأن تكون المقاومة راجعة الى اقل عدد من العوامل الوراثية . واذا كان الاب المقاوم يحمل بعض الصفات الزراعية الجيدة التى يرغب المربى فى نقلها مع صفة المقاومة فإن أنسب طريقة للتهجين هنا هى استخدام طريقة تسجيل النسب أو التهجين التجميعى ، أما اذا كان الاب المقاوم ردىء فى صفاته الزراعية وغير متأقلم مع الظروف البيئية فإن طريقة التربية المناسب فى هذه الحالة هى التهجين الرجعى ، وفيما يلى وصف مبسط لكل طريقة دون الدخول فى التفاصيل :

أ- <u>طريقة تسجيل النسب</u>

وفيها يتم اختيار الأباء وتهجينها وابتداء من الجيل الثانى يتم حفظ سجلات نسب لكل نبات منتخب ونسله مع الاهتمام بإجراء العدوى الصناعية بالمسبب المرضى على النحو التالى :

العام الأول : التهجين بين الابوين أ × ب

العام الثانى : زراعة 10- 25 نبات من الجيل الأول زراعة متباعدة مع العناية بها ودراسة صفاتها ومقارنتها بالابوين ويحصد كل نبات على حده .

العام الثالث : زراعة 2000 – 6000 نبات من نباتات الجيل الثانى على سطور ومسافات بين النباتات ويتوقف ذلك على نوع المحصول والغرض من التهجين والامكانيات المتاحة . وتجرى عدوى صناعية لمسببات الأمراض السائدة ثم يتم انتخاب 200 – 600 نبات من النباتات ذات الصفات المرغوبة .

العام الرابع : يزرع الجيل الثالث فى سطور على مسافات بحيث يزرع سطر من كل نبات منتخب فى الجيل الثانى ، وتجرى العدوى الصناعية ويتم الانتخاب على اساس النباتات الفردية حيث تنتخب احسن الخطوط (حوالى 50 – 100 عائلة).

العام الخامس الى الثامن : تتبع نفس الخطوات السابقة فى الجيل الثالث ودائما يتم انتخاب احسن السطور وتنتخب احسن النباتات من احسن السطور (حوالى 25 – 50 سلالة نقية) .

العام التاسع : تجرى تجارب اولية لمقارنة المحصول ومقاومة الأمراض والحشرات السائدة فى المنطقة وتستبعد السلالات ذات الصفات غير المرغوبة .

العام العاشر الى الثالث عشر : تجرى تجارب كمية المحصول المكبرة بالمقارنة بالاصناف المحلية لعدة سنوات وفى مناطق عديدة ويستبقى فقط على السلالات المتفوقة وبعد ذلك يجرى اكثارها وتوزيعها على المزارعين .

ب- طريقة التجميع

يلجأ المربى التى اتباع هذه الطريقة فى التربية لمقاومة الأمراض اذا كان المسبب المرضى موجود بصورة طبيعية فى المنطقة التى يزرع فيها النبات . ولا تختلف هذه الطريقة عن طريقة تسجيل النسب فى السنة الأولى والثانية من حيث اختيار الابوين وتهجينها وزراعة الجيل الأول ولكن ابتداء من الجيل الثانى حتى الجيل السادس عادة تزرع النباتات كلها جملة فى قطعة واحدة من الارض ثم يجرى حصادها ودراسها وتجمع بذورها معاً (in bulk) دون حفظ سجلات نسب . وابتداء من الجيل السادس يتم انتخاب النباتات الفردية الممتازة والتى تحمل الصفات المرغوبة خصوصا تلك المتعلقة بمقاومة الأمراض والحشرات ، ويستكمل البرنامج حتى تصل النباتات الى حالة الاصالة الوراثية فى كثير من الصفات الظاهرة ويجرى التقييم النهائى .

جـ- طريقة التهجين الرجعى Back cross Method

يلجأ المربى الى استخدام هذه الطريقة عند الرغبة فى نقل صفة المقاومة لمرض ما أو حشرة معينة وحيث يتحكم فيها زوج أو زوجين من العوامل الوراثية الى صنف تجارى صفاته ممتازة ولكنه يصاب بمرض ما .

ولتوضيح ذلك نفترض ان لدينا صنف من القمح ممتاز فى صفاته (أ) ولكن يصاب مثلا بمرض الصدأ ونريد ادخال صفة المقاومة لهذا الصنف من صنف آخر مقاوم (ب) ، فانه فى هذه الحالة يتم تهجين الصنف (أ) والذى يسمى الأب الرجعى Recurrent parent الى الصنف (ب) والذى يسمى الآبي غير الرجعى Non- recurrent or donor parent ثم يهجن الجيل الرجعى الأول والأجيال الانعزالية

التالية تهجينا رجعيا الى الصنف التجاري (أ) لاستعادة التراكيب الوراثية الجيدة للآب التجارى مع ممارسة الانتخاب للصفة المراد نقلها فى كل جيل وهكذا لمدة 5 – 7 اجيال حتى نحصل فى النهاية على الصنف التجارى ذو الصفات المرغوبة بالاضافة الى صفة المقاومة لمرض الصدأ .

خطوات البرنامج :

السنة الأولى : يتم التهجين بين الآبي أ ، ب

السنة الثانية : يزرع 5 – 10 نبات من الجيل **الأول** وتلقح رجعيا الى الآبي (أ).

السنة الثالثة : تزرع نباتات التهجين الرجعى الأول وتعرض للعدوى الصناعية ويجرى التهجين الرجعى للآب (أ) فى 10 – 20 نبات مقاوم .

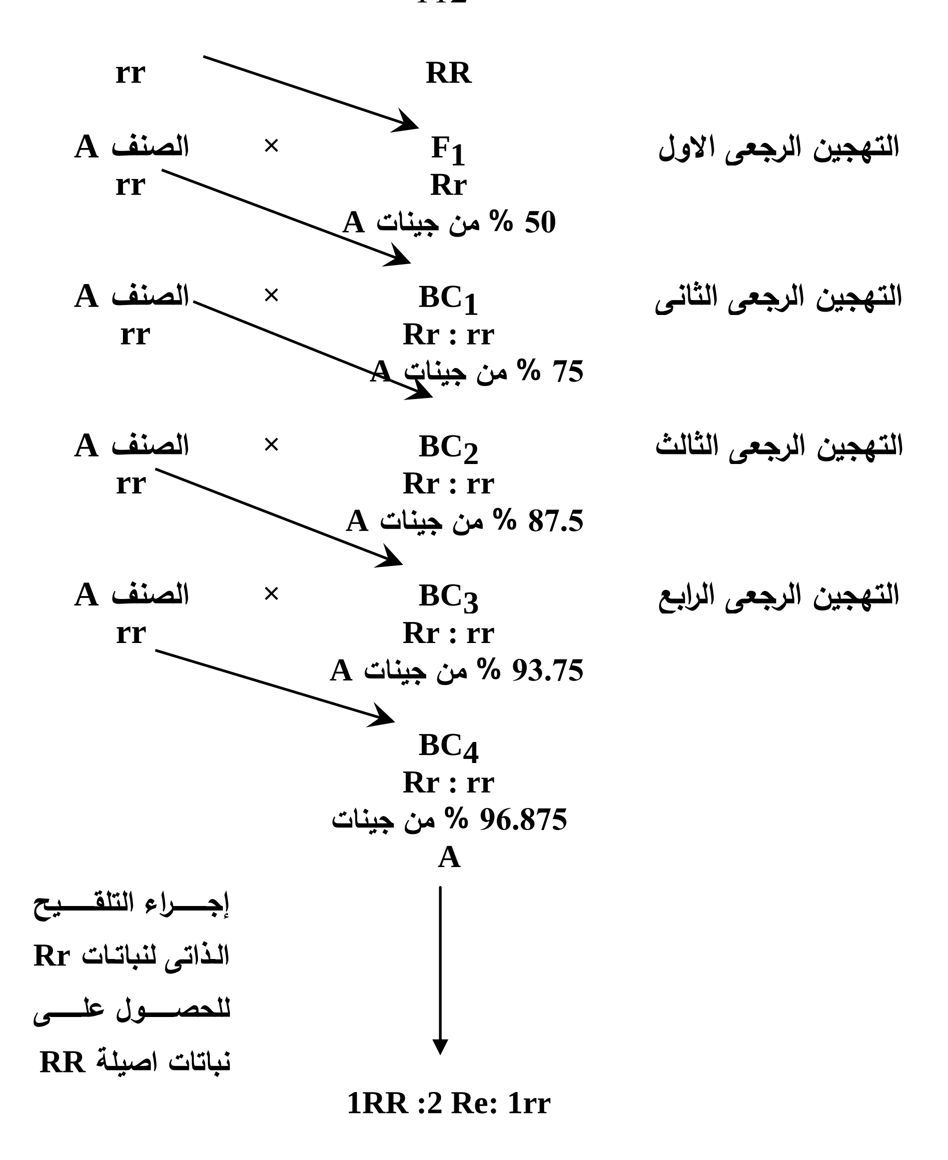
السنة الرابعة– السابعة: تعمل عدوى صناعية فى نباتات التهجين الرجعى وينتخب 30 – 50 نبات مقاوم وتهجن رجعيا الى الآب (أ) .

السنة الثامنة : نعمل عدوى صناعية فى نباتات التهجين الرجعى وتنتخب 400 نبات مقاومة لتزرع فى الجيل التالى .

وفى نهاية البرنامج يلجأ المربى الى إجراء التلقيح الذاتى لمدة 2 – 3 اجيال قبل اكثار الصنف الجديد الذى يحتوى على الصفات المرغوبة بالاضافة الى صفة المقاومة للمرض . واذا كانت الصفة المراد نقلها من الآبي الغير رجعى يتحكم فيها عوامل وراثية متنحية فان ذلك يتطلب إجراء التلقيح الذاتى بعد كل تهجين رجعى لتجميع العوامل الوراثية المسئولة عن المقاومة فى حالة اصيلة ثم يتم إجراء العدوى الصناعية واستكمال البرنامج . ويلاحظ ان طريقة التهجين الرجعى يمكن ان تستخدم فى تربية كلا من المحاصيل الذاتية التلقيح والخلطية التلقيح على السواء .

والرسم التالى يوضح الطريقة :

التهجين الأصلى **الأب المقاوم للمرض** × **الأب المتأقلم A**



ومن مزايا طريقة التهجين الرجعى :

1- الصنف الناتج من البرنامج يكون متأقلم مع الظروف السائدة بالإضافة الى مقاومة المرض أو الحشرة.

2- انتاج الصنف بهذه الطريقة يحتاج الى فترة أقل من التهجين العادى.

3- يمكن زراعة اكثر من جيل فى السنة الواحدة .

4- قلة عدد النباتات المنتخبة فى كل جيل رجعى .

ولكن يعاب عليها فى الآتى :

1- عند صعوبة إجراء التهجين بين الاباء تصبح هذه الطريقة غير مناسبة.

2- لا تسمح بتكوين تراكيب وراثية جديدة كما هو الحال فى التهجين العادى .

3- يصعب نقل الصفات ذات درجة التوريث المنخفضة .

4- لا تعمل على زيادة المحصول بل ثباته حيث أن الصنف الناتج لن يتفوق عن الاب التجارى فى المحصول والصفات الأخرى ولكنه سيكون مقاوم للمرض المطلوب التربية له .

4- السلالات المتعددة Multilines

يقصد بها مجموعة من السلالات المتشابهة وراثيا ولكن كل سلالة (Line) تحمل جين مختلف لمقاومة سلالة مرضية معينة (race)، والسلالات المتشابهة وراثيا ماعدا جين واحد يطلق عليها isolines . ويتم الحصول على هذه السلالات من خلال برنامج التهجين الرجعى . وميزة الصنف الناتج بهذه الطريقة انه يحقق مقاومة لمدى واسع من السلالات المرضية فاذا ظهرت سلالة مرضية جديدة وكانت بعض النباتات داخل الصنف حساسة لها فإن النباتات الأخرى داخل الصنف سوف تكون مقاومة لهذه السلالة المرضية ووجود التراكيب الوراثية الحساسة والمقاومة للمرض داخل الصنف النباتى الواحد تجعل هناك

buffering effect ضد انتشار المرض (Poehlman and Sleper 1999).

5- الطفرات

المقصود بالطفرات هو التغيرات الوراثية الفجائية التى تحدث للفرد والتى تؤدى الى تغيير صفات النسل الناتج ، وقد تكون الطفرات طبيعية او تلقائية spontaneous mutations او طفرات صناعية induced mutations يقوم المربى بإحداثها فى النبات باستخدام مطفرات اشعاعية او كيماوية . وتقسم الطفرات الى اربعة اقسام :

1- طفرات تحدث فى اعداد الكروموسومات مثل حالات التضاعف المختلفة
2- طفرات ترجع الى تغيرات فى تركيب الكروموسومات مثل حالات الانقلاب والانتقال .
3- طفرات عاملية نتيجة حدوث تغير فى التركيب الكيماوى للجين وتسمى Point mutation.
4- طقرات جسمية وتسمى Somatic or cytolasmic mutations

ويلجأ المربى الى استخدام الطفرات اذا لم تتواجد لديه اى جينات خاصة بالمقاومة فى الاصناف المحلية أو المستوردات المختلفة .

طرق تربية النباتات خلطية التلقيح

تتعدد طرق تربية النباتات خلطية التلقيح ونظرا لان نبات الذرة الشامية يعتبر من اشهر المحاصيل خلطية التلقيح لذلك يتم الاستعانة بهذا

المحصول فى عرض طرق التربية للمحاصيل الخلطية لمقاومة الأمراض والحشرات والتى تشمل :

أولا: الانتخاب الاجمالى

وفيه يتم انتخاب مجموعة نباتات مرغوبة من الصنف المراد تحسينه وتخلط بذرتها معا قبل الزراعة العام التالى ويلاحظ ان هذا الانتخاب يعتمد على الشكل الظاهرى ويتوقف نجاحه على مدى وجود التصنيفات الوراثية فى العشيرة . وتنجح هذه الطريقة فى تحسين بعض صفات الكوز والنضج ولكنها فشلت فى تحسين كمية المحصول فى الذرة للاسباب التالية : 1- عدم القدرة على تمييز التراكيب الوراثية عن طريق المظهر الخارجى ، 2- عدم التحكم فى التلقيح .

2- انتخاب السلالة النقية Inbred line selection

تعتمد هذه الطريقة على اختبار النسل حيث تنتخب الكيزان الممتازة من الصنف المفتوح التلقيح ويزرع كل كوز فى خط مستقل الموسم التالى مع الاحتفاظ بجزء من بذور كل كوز ثم يتم الانتخاب المظهرى لنسل كل كوز وذلك للصفات المرغوبة ومقاومة الأمراض وبناء عليه يتم خلط الاجزاء الباقية من الكيزان الاصلية التى اعطت نسلا جيدا وبعد ذلك تزرع هذه البذور التى تم خلطها فى حقل معزول .

انتاج الهجن التهجين Hybrids

يعتمد انتاج الهجن على الاستفادة القصوى من ظاهرة قوة الهجين Heterosis سواء كانت هجن فردية أو ثلاثية او زوجية . وفيما يلى شرح مبسط لبرنامج انتاج هجن جديدة من الذرة الشامية مقاوم للأمراض .

أولا: عزل السلالات النقية :

ويـتم ذلـك بـإجراء التلقـيح الـذاتى الصـناعى لـبعض النباتـات ذات الصفات المرغوبة من العشيرة المفتوحة التلقيح أو اى مصدر اخر فقد يكون صنف تركيبى أو هجين زوجى أو هجين فردى، وتتم زراعة كل كوز فى خط مستقل Ear to - row العام التالى ، ويستمر ذلك لمدة 5 – 7 اجيال وفى كل جيل يتم إجراء التلقيح الذاتى للنباتات التى تحمل الصفات المرغوبة . ويجب إجراء عدوى صناعية للتأكد من مقاومة هذه السلالات للمسببات المرضية . وفى النهاية نحصل على مجموعة من السلالات النقية Inbred lines والتى تمثل الاباء التى تستخدم فى برنامج التهجين . ويلاحظ ان هذه السلالات تكون على درجة عالية من التماثل الوراثى وتكون ضعيفة النمو نتيجة عمليات التربية الداخلية التى تعرضت لها لعدة اجيال وما ترتب عليه من تجميع للعوامل الوراثية المتنحية بحالة اصيلة ولكنها تكون مقاومة للمرض أو الحشرة التى يتم الانتخاب لها ، وهذه السلالات عند تهجينها معا تحدث ظاهرة قوة الهجين التى نبحث عنها .

ثانيا: تقييم السلالات النقية :

نظرا لكثرة عدد السلالات النقية الناتجة من عمليات العزل فانه يصعب ادخالها كلها فى برنامج انتاج الهجن مباشرة خصوصا ان انتاج سلالات متميزة عملية ليست سهلة وقد نبحث بين مئات السلالات النقية للوصول الى السلالة المتميزة . فاذا كان لدينا عدد 20 سلالة نقية فان عدد الهجن الفردية الناتجة منها يساوى ن(ن–1)/2 (حيث ن = عدد السلالات النقية) أى 20×19/2 = 190 سلالة ، اما اذا كان عدد السلالات 100 فيكون عدد الهجن الفردية = 4950 وطبيعى ان هذا العدد من الهجن الفردية كبير

جدا ويصعب تقييمه . لذلك يلجأ المربى الى تقييم لهذه السلالات لتحديد اى منها سوف يدخل فى برنامج انتاج الهجن . وهناك اختبارين لتقييم السلالات النقية الجديدة :

أ- **اختبار القدرة العامة على التألف** : وفيه يتم تهجين السلالات الابوية الى صنف تجارى كشاف Tester وبناء على نتيجة تقييم الهجن القمية Top crosses يتم استبعاد 50 % من السلالات النقية . فلو كان لدينا 20 سلالة نقية سنحصل بالطبع على 20 هجين قمى فقط ننتخب افضل 10 هجن قمية منها (وبالتالى ننتخب افضل 10 سلالات ابوية تتميز بمقاومتها للمرض أو الحشرة موضع الدراسة) ونستبعد الباقى .

ب- **اختبار القدرة الخاصة على التآلف** : حيث يتم إجراء جميع التهجينات الممكنة بين السلالات المتميزة الناتجة من تقييم القدرة العامة على التآلف . وفى هذه الحالة يكون عدد الهجن الفردية الممكنة من 10 سلالات هى (10×9/2) = 45 هجين فردى ، يجرى تقييم هذه الهجن فى تجربة مقارنة للوصول الى افضل الهجن الفردية الناتجة ، وبناء على نتائج تقييم الهجن الفردية يتم تحديد افضل السلالات الأبوية التى ستسخدم فى انتاج الهجن الفردية المتميزة.

ثالثا : زراعة الهجن الفردية :

بعد ان يتم تحديد افضل السلالات الابوية يتم تكوين الهجن الفردية المتميزة بزراعة السلالة الآب (أ) بالتبادل مع السلالة الأم (ب) بمعدل 1 : 2 خط ويتم ازالة النورات المذكرة من نباتات الأم وعند الحصاد تؤخذ الكيزان

المتكونـة علـى النبـات الأم لتمثـل تقـاوى الهجـين الفـردى الجديـد تمهيـدا لتوزيعها على المزارعين.

رابعا: انتاج الهجن الزوجية :

نظرا لارتفاع ثمن تقاوى الهجن الفردية يلجأ المربى الى انتاج الهجن الزوجية . والهجين الزوجى عبارة عن تهجين بين هجينين فرديين . ويتم ذلك بزراعة الهجين الفردى (أ) الآب بالتبادل مع الهجين الفردى الآم (ب) بمعدل 1− 3 أو 2 − 6 خطوط ، وتزال النورات المذكرة من نباتات الهجن الفرديـة المسـتعملة كـأم وتؤخـذ الكيـزان الموجـودة علـى هـذه النباتـات لتمثـل الهجين الزوجى الجديد .

ونظرا لكثرة عدد الهجن الزوجية التى يمكن ان تتكون من مجموعة السلالات الأبوبة فانه يصعب تقييمها جميعا. لذا يلجأ المربى الى التنبؤ بمحصول الهجين الزوجى وذلك بأخذ متوسط محصول الهجن الفردية غير الأبوبة التى تدخل فى تكوين هذا الهجين الزوجى حيث يكون هناك ارتباط كبير بين المحصول المتنبؤ به والمحصول الفعلى للهجين الزوجى .

الهجن الثلاثية : Three Way Cross

قد يلجأ المربى الى انتاج هجن ثلاثية وذلك بالتهجين بين هجين فردى × سلالة نقية حيث يستعمل الهجين الفردى كأم لان محصولها من البذور يكون عاليا مما يؤدى الى انخفاض ثمن التقاوى وتستعمل السلالة النقية كـأب (مصـدر لحبـوب اللقـاح) . أى ان انتـاج الهجين الثلاثـى يحتـاج الـى ثلاثة سلالات نقية . ولكى يكون الهجين مقاوم للمرض أو الحشرة فيجب أن تكون السلالات الابوية الداخلة فى تكوينه مقاومة لسلالات المرض المنتشر فى المنطقة .

الأصناف التركيبية : Synthetic Varieties

نظرا لارتفاع تكاليف انتاج الهجن الفردية والزوجية وضرورة شراء هذه التقاوى كل عام من مصدرها حيث لا يصح اخذ تقاوى العام التالى من محصول هذا العام لان ذلك يسبب تدهور شديد فى انتاجية الهجن نتيجة عدم التحكم فى التلقيح ، فقد يلجأ المربى الى انتاج اصناف تركيبية Synthetics للتغلب على هذه المشاكل . والصنف التركيبى يتكون من مجموعة من السلالات النقية او مجموعة تراكيب وراثية سبق اختبارها للقدرة العامة على الآئتلاف ويتم تركها للتلقيح المفتوح فى حقل معزول والسلالات الأبوية الداخلة فى تكوين هذه الأصناف يتم اختبارها لمقاومة الأمراض والحشرات السائدة . ويمكن للمزارع ان يأخذ تقاوى العام التالى من محصول هذا العام ، وهذه الأصناف التركيبية افضل من الأصناف مفتوحة التلقيح ولكنها اقل فى الانتاجية من الهجن الفردية والزوجية .

الانتخاب الدورى أو المتكرر Recurrent selection

يقصد بالانتخاب الدورى طريقة التربية التى تعمل على زيادة التكرار الجينى لصفة كمية معينة من خلال عدة دورات من الانتخاب، وتشمل الدورة الانتخابية الواحدة ببساطة على تحديد التراكيب الوراثية المتميزة لصفة كمية معينة يجرى تحسينها واجراء تلقيح ذاتى للنباتات المنتخبة ثم إجراء تهجينات بين أنسال هذه النباتات المنتخبة الناتجة من التلقيح الذاتى وبعد ذلك خلط البذور الناتجة لتكوين العشيرة المحسنة. ويلجأ المربى لاستخدام هذه الطريقة لزيادة مدى التصنيفات الوراثية والحصول على تراكيب وراثية جديدة ذات صفات مرغوبة ، ويوجد منها اربعة طرق هى:

أ- الانتخاب الدورى البسيط .

ب-الانتخاب الدورى للقدرة العامة على التآلف .

جـ- الانتخاب الدورى للقدرة الخاصة على التآلف .

د- الانتخاب الدورى العكسى .

وسوف نلقى الضوء على أول طريقة فقط وهى الانتخاب الدورى البسيط نظرا لامكانية استخدام هذه الطريقة فى تحسين الصفات البسيطة كالمقاومة للأمراض وغيرها وايضا لما تتميز به هذه الطريقة من بساطة فى التنفيذ . وفى هذه الطريقة يتم إجراء التلقيح الذاتى لعدد من النباتات فى العشيرة الأصلية وعند النضج يتم انتخاب النباتات التى تحمل الصفات المرغوبة كالمقاومة للأمراض وغيرها ، وفى السنة الثانية يتم زراعة البذور الناتجة من التلقيح الذاتى للنباتات المنتخبة بطريقة كل كوز فى خط حيث تجرى جميع التهجينات الممكنة بين الخطوط لتمثل دورة انتخابية واحدة ، وغالبا يتم تكرار هذه الدورات عدة مرات حتى الوصول الى التحسين المطلوب فى الصفة . وفى بعض الاحيان اذا أمكن تمييز النباتات ذات الصفات المرغوبة قبل التزهير فإنه يمكن إجراء التهجين فى الموسم الأول وليس الثانى كما هو الحال فى مرض البياض الزغبى أو تبقع الأوراق فى الذرة الشامية حيث يتم تمييز النباتات المقاومة مبكرا فى مرحلة النمو وقبل التزهير وهنا يمكن إجراء التهجينات فى نفس السنة الأولى .

وفى هذا الصدد يذكر Fehr (1987) أنه امكن انتاج عدة أصناف من البرسيم الحجازى وكانت مقاومة للامراض والحشرات باستخدام طريقة الانتخاب الدورى البسيط أو المظهرى .



الفصل الثانى
طرق أخرى للاستفادة من جينات المقاومة

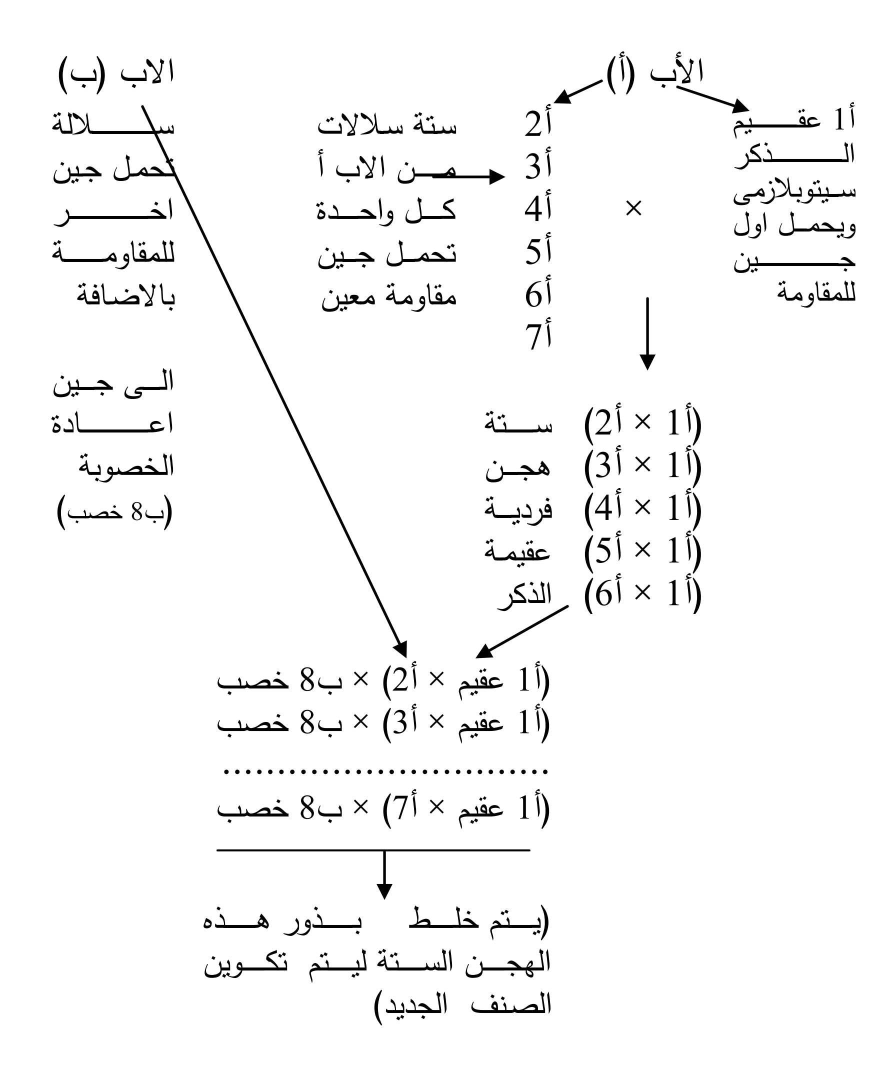
يتناول هذا الفصل طرق التربية التالية:

Multilineal Hybrids
Pyramiding Breeding
Geographical multiline
Durable Resistance
Shuttle Breeding

طرق أخرى للاستفادة من جينات المقاومة :

Multilineal Hybrids -1

أقترح هذه الطريقة العالم Borlaug (1965) وفيها استخدم مجموعة من الهجن محل بعض السلالات الثابتة التى تستخدم فى انتاج السلالات المتعددة multilines واطلق عليها multilineal hybrids والصنف الناتج يحقق مزايا استخدام السلالات المتعددة بالاضافة الى الاستفادة من قوة الهجين . فإن كان هناك سلالتين أ ، ب ويراد التهجين بينهما للاستفادة من ظاهرة قوة الهجين فيتم أولا ادخال صفة المقاومة لسلالة مرضية معينة وكذلك صفة العقم الذكرى الى الاب أ وفى نفس الوقت يتم ادخال ستة جينات مختلفة للمقاومة الى ستة سلالات يتم تكوينها من نفس الاب أ ايضا ، أما الاب ب فيتم ادخال جين آخر للمقاومة اليه بالاضافة الى جين اعادة الخصوبة . بعد ذلك يتم إجراء التهجين بين سلالة أ العقيمة الذكر مع كلا من الستة سلالات الاخرى لنفس الاب والتى يحمل كل منها جين للمقاومة ليعطى ذلك ستة هجن فردية عقيمة الذكر ثم يهجن كل هجين من هذه الهجن الستة مع الاب ب الخصب ليعطى ستة هجن خصبة حيث يتم خلطها معا لانتاج الصنف الجديد Multilineal hybrid والذى يتميز بمقاومتة لمجموعة من السلالات المرضية المنتشرة فى منطقة زراعته كما يستميز بالقدرة الانتاجية العالية ، ويمكن توضيح خطوات هذه الطريقة كما يلى :



2- التربية الهرمية Pyramiding :

أحدى طرق التربية يتم فيها انتاج صنف مقاوم للمسبب المرضى لمدة اطول حيث يتم ادخال جين أو زوج من جينات المقاومة فى الصنف الذى ينتج لاول مرة ويتم بعد ذلك زيادة جينات المقاومة فى كل مرة يتم فيها

اعادة انتاج الصنف المقاوم بنظام متعاقب ، والشكل التالى يوضح استخدام هذه الطريقة :

جين واحد للمقاومة	R_1	الانتاج الاول للصنف
جينين للمقاومة	R_1 R_2	الانتاج الثانى للصنف
ثلاثة جينات للمقاومة	R_1 R_2 R_3	الانتاج الثالث للصنف
اربعة جينات للمقاومة	R_1 R_2 R_3 R_4	الانتاج الرابع للصنف

طريقة التربية الهرمية لاربعة جينات للمقاومة

وقد استخدمت هذه الطريقة فى التربية لمقاومة مرض صدأ التاج فى الشوفان . ومن عيوب هذه الطريقة انها تحتاج الى مجهود كبير لادخال جينات المقاومة الى النبات العائل كما ان استخدام طريقة التهجين الرجعى لادخال جينات المقاومة الى النبات من شأنها ان تجعل صفات النبات الناتج لا تزيد عن مستوى الأب التجارى باستثناء نقل الجينات الخاصة بالمقاومة .

3- طريقة Geographical multiline

وفيها يتم تقسيم المنطقة التى ينتشر فيها المرض بوبائية الى عدة مناطق جغرافية ويزرع بكل منطقة صنف يحمل جين معين للمقاومة. وهذا يقلل من خطر الانتشار الوبائى للمرض خصوصا فى المساحات التى تعتمد على الزراعة المنفردة للمحصول monoculture . فاذا كان هناك اربعة مناطق جغرافية يزرع بكل منطقة محصول يحمل جين واحد أو زوجين من جينات المقاومة للمرض دون أن يحدث تداخل بين منطقة واخرى . ولقد اطلق Nilson (1973) على هذا النوع من المقاومة اسم (Geographical multiline) وعند حدوث الاصابة الشديدة للمرض فباستخدام هذه الطريقة سوف تقتصر الخسارة على منطقة واحدة ويقل الفقد

فى المحصول الى الحد الادنى عكس الزراعة المنفردة والتى يحدث فيها فقد كامل للمحصول عند ظهور سلالة شديدة الضراوة .

4- Durable Resistance :

يطلق عليها المقاومة طويلة المدى أو المقاومة المتينة او المقاومة ذات القدرة العالية على الاستمرار، ويقصد بها تلك الحالة الى يظل فيها النبات مقاوم للمسبب المرضى فترة طويلة رغم انتشار الطفيل فى البيئة المنزرع فيها المحصول، ويعتمد ذلك على كلا من المحصول والطفيل وطبيعة المقاومة وظروف المنطقة ، فيؤثر على هذا النوع من المقاومة بجانب جينات المقاومة ظروف الانتاج والدورة الزراعية وطول موسم النمو ونوع المسبب المرضى والعوائل البديلة وغيرها من العوامل. وهنا يجب الاهتمام باجراء العدوى الصناعية بخليط من سلالات الطفيل المنتشرة وليس من سلالة واحدة فقط.

5- Shuttle Breeding

يذكر Gangopadhyay and Padmanahhan (1987) انه عند التهجين بين الاب المعطى donor الذى يحمل جينات المقاومة للمرض والاب التجارى العالى الانتاجية ولكنه يصاب بالمرض فان الجيل الأول الناتج والاجيال الرجعية التالية يتم تقييمهم فى مكان إجراء التهجين تحت ظروف العدوى الصناعية وحيث تكون العدوى منتشرة بشدة ، ولكن فى بعض الاحيان نتيجة عدم ملائمة الظروف البيئية فى اماكن معينة حيث يكون هناك مشكلة فى عقد البذور (نتيجة الانخفاض الشديد فى درجة الحرارة) أو لصعوبة إجراء التلقيح الصناعى (عند ارتفاع درجة الحرارة) يمكن إجراء عمليات التقييم للاجيال الرجعية المختلفة فى عدة مناطق لاستكمال برنامج التربية .



الباب الثالث
الإتجاهات الحديثة فى التربية لمقاومة الأمراض والحشرات

يتناول هذا الباب الفصول التالية:

الفصل الأول: زراعة الأنسجة

الفصل الثانى: العلامات المميزة الجزيئية

الفصل الثالث: تقنية الهندسة الوراثية



الفصل الأول
زراعة الأنسجة

يتناول هذا الفصل الموضوعات التالية:

+ زراعة الأجنة
+ الأجنة الجسدية
+ زراعة المتوك
+ التهجين الجسمى
+ الإختلافات الجسمية

الاتجاهات الحديثة فى التربية لمقاومة الأمراض والحشرات

رغم النجاح الهائل والمستمر فى مجال تربية المحاصيل لانتاج أصناف جديدة تتميز بالقدرة الانتاجية العالية ومقاومة الأمراض والحشرات وغيرها من الصفات المرغوبة الا ان هناك مجموعة من العقبات تواجه مربى النبات اثناء برنامج التربية للصفات المحصولية بصفة عامة والتربية لمقاومة الأمراض والحشرات بصفة خاصة باستخدام الطرق التقليدية فى البرنامج وتتمثل هذه الصعوبات فى طول فترة البرنامج (فقد يستغرق المربى فترة 15 سنة منذ بداية تكوين التهجينات وحتى انتاج الصنف وتوزيعه على النطاق التجارى) واللجوء الى اختبار النسل للتمييز بين التراكيب الوراثية المختلفة ووجود بعض الحواجز التى تمنع إجراء التهجين بين الأنواع والاجناس النباتية المختلفة وايضا قد يكون هناك ارتباط بين الصفات المرغوبة وغير المرغوبة وغيرها من الصعاب التى تواجه المربى وتحتاج الى وقت ومجهود واحيانا يكون هناك حدود معينة لنقل العوامل الوراثية المسئولة عن الصفات المرغوبة فلا يستطيع المربى التغلب عليها . لذلك بدأ المربى ينظر الى كيفية التغلب على هذه العقبات والاستفادة من التقدم الهائل فى مجال التقنية الحيوية Biotechnology واستخدام هذه الطرق فى تحقيق أهداف برنامج التربية ولا سيما فى مجال التربية لمقاومة الأمراض والحشرات . وتتعدد طرق التقنية الحيوية أو البيوتكنولوجى التى تستخدم فى الوقت الحاضر وسوف نركز على ثلاثة موضوعات منها وهى زراعة الانسجة Tissue culture ، واستخدام العلامات المميزة الوراثية أو الجزيئية Molecular markers وانتاج الأصناف المحولة وراثيا Transgenic. وسوف نقوم بالقاء الضوء على كل منهم وتوضيح كيفية الاستفادة من

امكانيات كل طريقة فى سبيل انتاج أصناف مقاومة للأمراض والحشرات مع ذكر أمثلة لأهم الأمراض والحشرات التى تمت التربية لها فى المحاصيل المختلفة باستخدام هذه التقنية الحديثة .

زراعة الأنسجة Tissue culture

يقصد بزراعة الأنسجة قدرة الخلايا والانسجة النباتية على النمو والانقسام عندما توضع فى بيئة تحتوى على عناصر غذائية ومنظمات نمو (اكسين و/او سيتوكينين) وغيرها. ويتوقف نجاح تقنية زراعة الانسجة على مجموعة من العوامل منها :

- النوع النباتى المستخدم فى زراعة الانسجة حيث يمكن استخدام هذه الطريقة بنجاح فى حالة محاصيل الدخان والبطاطس والبرسيم الحجازى وقصب السكر والأرز وبعض الأنواع البستانية اكثر من غيرها من المحاصيل الأخرى .
- الصنف النباتى داخل النوع الواحد .
- مصدر النسيج المستخدم (ورقة – ساق – فلقات– جنين– قمة مرستيمية أو غيرها) .
- عمر النبات .
- البيئة الغذائية المستخدمة .

وفى مزارع الانسجة تحتوى البيئة الغذائية على أملاح غير عضوية وسكر كمصدر للكربون وفيتامينات للمحافظة على معدلات عالية للنمو وهرمونات مثل الاكسين والسيتوكينين للتحكم فى نمو الخلايا وعمليات الانقسام. ويلاحظ ان النسبة بين التوكسين الى السيتوكينين يكون لها دورا هاما فى تكوين النموات الخضرية والجذور. فإذا كانت نسبة الاكسين :

السيتوكينين منخفضة فإن ذلك يشجع تكوين النموات الخضرية ويثبط نمو الجذور. واذا كانت النسبة بينهما عالية فإن ذلك يشجع تكوين الجذور . بينما تشجع النسبة المتوسطة بين الاكسين والسيتوكينين عمليات الانقسام المستمر للخلايا .

وقد ثبت نجاح هذه الطريقة فى انتاج اصناف متجانسة وخالية من الأمراض الفيروسية وغيرها. ويمكن دراسة العديد من التقنيات من خلال زراعة الانسجة مثل اكثار السلالة الخضرية (الاكثار الدقيق) clonal propagation وزراعة الأجنة Embryo culture والأجنة الجسمية somatic embryogensis وزراعة المتوك anther culture والتهجينات الجسدية Somatic hybridization على النحو التالى :

1- اكثار السلالة الخضرية : Clonal Propagatian

يطلق على هذه الطريقة ايضا الاكثار الدقيق micro propagation وتتميز بإمكانية انتاج الأف النباتات من مصدر وراثى واحد ، وتلعب دورا هاما فى اكثار بعض النباتات البستانية واما فى حالة محاصيل الحقل فإن استخدامها يكون محدود حيث ان مثل تلك المحاصيل تنتج كمية وفيرة من البذور كما انها تحتاج الى عمالة كثيرة وتكلفة عالية فى عمليات الاكثار الدقيق فى المعمل ونقل البادرات للزراعة فى مساحات واسعة فى الحقل. وعموما يمكن استخدام هذه الطريقة فى انتاج نباتات خالية من المسببات المرضية خاصة الفيروسات . فمن المعروف ان الفيروسات تنتقل من النباتات التى تتكاثر لاجنسيا الى البادرات من خلال الانسجة المصابة ولما كان الفيرس يتواجد بتركيز عالى فى الأوراق

والسـيقان ويكـاد يكـون معـدوما فـى الانسـجة المرسـتيمية، فإنـه بإكثـار السـلالات مـن الخلايـا المرسـتيمية الجديـدة يمكـن الحصـول علـى سـلالات خالية من الاصابة الفيروسية. ولقد استخدمت هذه الطريقة بنجاح فى انتاج بعض أصناف البطاطس والكسافا والبرسيم الاحمر وبعض أنواع الاعشاب الهامة وكانت خالية من الاصابة الفيروسية. ويمكن استخدام هذه الطريقة فى حفظ وتبادل الأصول الوراثية (Poehlman and Sleper 1995) .

2- زراعة الأجنة Embryo culture

هنـاك مجموعـة مـن العقبـات التـى تنشـأ نتيجـة التهجـين بـين الأنـواع النباتية المتباعدة وراثيا يطلق عليها Post fertilization barriers تؤثر علـى تكوين الأندوسبرم ونمو الجنين نتيجـة اختلاف مستوى التضـاعف أو التحورات الكروموسومية أو عدم التوافق السيتوبلازمى وغيرها (Quiros and Buchan 1988) وللتغلب على هذه العقبات يمكن استخدام طريقة زراعة الأجنة حيث يتم زراعة الجنين الناتج من التهجين على بيئة غذائية مناسبة تحت ظروف التعقيم . ويجب تحديد مجموعة من العوامل لضمان نجاح هذه الطريقة مثل :

1- تحديد موانع التهجين .

2- اختيار الأباء المناسبة لعملية التهجين .

3- الأختيار المناسب للنبات الأم .

4- الظروف المثلى للبيئة الغذائية المستخدمة .

5- عمر الجنين وقت زراعته على البيئة الغذائية .

وقد تستعمل هذه التقنية فى التغلب على مشاكل السكون فى البذور فى الهجن النوعية ولها دور هام فى مقاومة الأمراض والحشرات ، ومن الأمثلة

على استخدام زراعة الأجنة فى مجال التربية لمقاومة الحشرات هو ما ذكره (Bauchan، 1987) فى البرسيم الحجازى، حيث لا يوجد صنف من هذا المحصول يكون مقاوم لخنفساء البرسيم الحجازى *Hypera postica* أو نطاط أوراق البطاطس *Empoasca faba* ، ولكن هناك نوع قريب من البرسيم الحجازى *M. scutellata* مقاوم للحشرات ول ا يمكن نقل هذه الصفة عن طريق التهجين الجنسى وهناك محاولات للاستفادة من زراعة الاجنة للحصول على اجنة من هذان النوعان تكون مقاومة للحشرة .

3- الأجنة الجسدية Somatic embryogensis

يذكر McKersie and Brown (1997) أن الأجنة الجسدية هى تلك الأجنة التى تتكون من الخلايا الخضرية وهى تنشأ بدون حدوث اخصاب كما هو الحال فى الجنين الزيجوتى الناتج من اتحاد جاميطات ، كما أن الأجنة الجسمية لا تحتوى على اندوسبرم يوفر لها الغذاء أو أغلفة توفر لها الحماية كما هو الحال فى الجنين الزيجوتى . وتنشأ الأجنة الجسمية من مصادر مختلفة مثل نسيج ميزوفيل الأوراق - الساق - الجذر - حبوب اللقاح - أو حتى البروتوبلاست .

ويتم تكوين الأجنة الجسدية باستخدام اكسين معين Auxin وكذلك السيتوكينين cytokinins . ويمكن للأجنة أن تتكون مباشرة على سطح النسيج أو تتكون من خلايا الكالوس أو معلق الخلية . ويتوقف تكوين الأجنة الجسدية المتكونة على التركيز المستخدم من الأكسين وكذلك مدة التعرض لهذا الأكسين .

ويذكر Stuart وآخرون (1985) أن التركيز العالى من الاكسين قد أدى الى تكوين انسجة جسدية كثيرة ولكن آثر ذلك على نوعية هذه الأجنة

ومحتواها من البروتين وذلك بالمقارنة باستخدام الجرعات المنخفضة من الاكسين . ويضيف (Larkin، 1987) ان التركيزات العالية من التوكسين تشجع تكوين الاختلافات الجسدية عند استخدام المزارع لمدة طويلة وهذا أمر غير مرغوب سواء فى عملية التحول الوراثى أو انتاج البذور الصناعية Artificial seeds . ويذكر (Berersdorf، 1990) أن هناك مشكلة تكمن فى ضعف النباتات الناتجة بهذه الطريقة وانخفاض حيويتها .

ويمكن تلخيص المجالات التى تستخدم فيها الأجنة الجسدية فيما يلى :

1- أكثار السلالات الخضرية (Clones) للنباتات المتميزة والمتجانسة وراثيا ، طبقا لما ذكره كلا من (McKersie and Bowly، 1993) .

2- انتاج البذور الصناعية (Filippone وأخرون ، 1992) .

3- يمكن استخدامها فى انتاج اصناف مقاومة للامراض الفيروسية.

4- لها دور هام فى انتاج النباتات المحولة وراثيا (Chang واخرون 1994) .

4- زراعة المتوك Anther culture

تستخدم هذه الطريقة فى انتاج النباتات الأحادية haploids فى كثير من الأنواع النباتية وتتم مضاعفة مثل هذه النباتات الأحادية بمعاملتها بالكولشسين وبذلك نصل الى حالة الأصالة الوراثية homozygosity بطريقة سريعة. فمن المعروف أن الاصالة الوراثية والتى يمكن الوصول اليها فى المحاصيل الذاتية بعد 5- 7 أجيال من التلقيح الذاتى

يمكن الوصول اليها بهذه الطريقة بعد جيل واحد ، وتكون النباتات الناتجة اصيلة فى جميع مواقعها الوراثية homozygous at all loci .

كما يلاحظ انه فى النباتات الثنائية الخليطة فإن تأثير الجينات المتنحية يكون مختبأ تحت تأثير العوامل السائدة اما فى حالة النباتات الاحادية أو الاحادية المتضاعفة فان مثل هذه الجينات المتنحية يمكنها ان تعبر عن نفسها وتحدث تأثيرها فى الشكل الظاهرى للنبات (Peohlman and Sleper 1995) . وتعطى هذه الطريقة الفرصة لمعرفة كيف يمكن للمسببات المرضية والتوكسينات التى تفرزها من أن تحدث تأثيراتها على مستوى الخلية وبالتالى فهى تلعب دور هام فى مجال التربية لمقاومة الأمراض والحشرات . وطريقة انتاج النباتات الاحادية من خلال طريقة زراعة المتوك anther culture موضحة فى شكل (6).

شكل (6): مزرعة المتوك. تم الحصول على متوك غير ناضجة (a) من الزهرة حيث زرعت فى بيئة آجار (b) . وفى الحالة (A) تكون الجنين (c) ومنه نشأ نبات أحادى (d) تم نقله الى تربة معقمة (e) . وفى الحالة (B) تم كوين كالوس (f) ومنه نشأ نبات أحادى (g) حيث تم نقله الى تربة معقمة (h). ويلاحظ أن تكوين الكالوس أكثر شيوعا من تكوين الجنين Peohlman and Sleper, 1995).

ويعتمد نجاح هذه الطريقة على مجموعة من العوامل تشمل : -

التركيب الوراثى للنبات

- المعاملات الأولية للنسيج (tissue pretreatment)
- حالة النمو للنبات الأصلى
- مرحلة النمو للميكروسبور

– تركيب البيئة المستخدمة ، وغير ذلك من العوامل .

ورغم ذلك فقد تمكن Wu وآخرون (1980) من انتاج سلالة جديدة من الذرة الشامية Qun Hua باستخدام هذه التقنية ولوحظ ان 90 % من الهجن التى دخلت فيها هذه السلالة كأب كانت عالية المحصول ومقاومة للأمراض. وباستخدام هذه الطريقة تمكن (Zhang، 1982) من انتاج صنف هجين من الأرز مقاوم للأمراض بالإضافة الى المحصول العالى والتبكير فى النضج .

وذكر كلا من (Foroughi- Wehr and Friedt، 1984) أنه أمكن الحصول على سلالات أصيلة من الشعير مقاومة لفيروس الموزيك الأصفر (BaYMV) باستخدام زراعة المتوك وانتاج نباتات أحادية ثم مضاعفة العدد الكروموسومى لها للوصول الى الحالة الثنائية .

كما أمكن لكل من (Hu and Zeng، 1984) انتاج صنفين من الأرز هما Hua Yu No 1 and 2 فى فترة 5 سنوات بالمقارنة بالطرق التقليدية والتى تستغرق فترة قد تصل الى 12 سنة وكلا الصنفين أظهر تفوق فى المحصول عن الأباء وكذلك المقاومة لمرض التبقع البكتيرى Bacterial blight. كما تمكن نفس العالمان (Hu and Zeng، 1984) من انتاج سلالة من القمح (Jingdan 2288) مقاومة لمرض الصدأ المخطط والبياض الدقيقى .

وهناك بعض المشاكل المرتبطة بانتاج النباتات الاحادية حيث ان معظم محاصيل الحبوب والبقول تعطى نباتات احادية غير فعالة مما يدعو الى تطوير طرق زراعة المتوك فى هذه المحاصيل لتصبح اكثر فعالية كما ان التباينات الوراثية التى تحدث فى النباتات الاحادية المتضاعفة

تؤدى الى عدم ثبات سلالات التربية (Poehlman and Sleper ، 1995) .

4- التهجين الجسمى Somatic hybridization

قد يطلق على التهجين الجسمى somatic hybridization اتحاد أو اندماج البروتوبلاست protoplast fusion وهو يشير الى الاتحاد الذى يحدث بين بروتوبلاست الخلايا المختلفة. معنى ذلك أن التهجين الجسمى يمكننا من الحصول على هجن جديدة متميزة لا يمكن الوصول اليها باستخدام الطرق التقليدية (Cocking، 1979) ، كما يمكن نقل كروموسومات أو جينات خلية الى خلية أخرى . ويمكن عزل البروتوبلاست من عدة أنسجة (الأوراق – الفلقات – السويقة الجنينية – جذور البادرات – معلق الخلايا – الكالوس) . ويذكر (Damiani وآخرون، 1988) أن مصدر عزل البروتوبلاست يؤثر على كفاءة عملية انقسام ودمج البروتوبلاست .

وللوصول الى التهجين الجسمى يجب ازالة جدار الخلية وهناك ثلاثة انزيمات هام مطلوبة لهضم الجدار الخلوى وهى السيليلوز والهيمسيليلوز والبكتينيز . وعندما يتم تحرير البروتوبلاست تتم عملية الاندماج وذلك باضافة بعض المواد الكيماوية الهامة مثل polyethylene glycol ويرمز لها بالرمز (PEG) والتى تساعد فى عملية اتحاد البروتوبلاست أو يمكن ذلك بتعريض معلق البروتوبلاست الى مجال كهربى electofusion حتى يحدث الاتحاد بين البروتوبلاست وهى أكثر فعالية من الأولى كما انها لا تحدث تأثير سام على البروتوبلاست . وشكل (7) يوضح مفهوم الطريقة:

شكل (7): التهجين الجسمي. (A) خلايا نباتية من نوع نباتى ، (B) بروتوبلاست من خلايا ابوية بعد نزع الجدار الخلوى . (C) عمل مزرعة من معلق البروتوبلاست . (D) حدوث الاتحاد أو الاندماج للبروتوبلاست

. (E) تكوين البادرات الهجينية الناتجة من اتحاد البروتوبلاست (Poehlman and Sleper, 1995) .

ويمكن ايضا انتاج مدى واسع من الطرز الهجينية hybrid types نتيجة اتحاد الأنوية مع السيتوبلازم والاتحادات التى تحدث بين الميتوكوندريا والكلوروبلاست وكذلك حدوث الاختلافات الجسمية (Pehu وآخرون، 1989) . فيمكن لطريقة التهجين الجسمى أعطاء ثلاثة أنوع من الهجن:

1- هجن متناسقة أو متماثلة symmetric او قد تكون الهجن غير متناسقة او غير متماثلة asymmetric وذلك حسب المساهمة النسبية لنواتى الابوين.

2- هجن سيتوبلازمية cytoplasmic hybrids ويطلق عليها cybrids وذلك عندما يقتصر الاتحاد على سيتوبلازم الابوين ولا يشمل اتحاد الانوية .

3- هجن تنتج من التوافق بين نواة أحد الابيون مع سيتوبلازم الأب الاخر (Monti، 1992) .

ويذكر (Arcion وآخرون 1992) أن التهجين الجسمى كما يمكنه التغلب على الحواجز والعقبات التى تنشأ من التهجين بين الأنواع والأجناس المختلفة فانه يمكن من خلاله الاستفادة من التراكيب الوراثية للنباتات البرية كمصدر للجينات المسئولة عن الصفات الهامة مثل المقاومة للأمراض والحشرات .

ومن الأمثلة على استخدام هذه الطريقة فى مجال التربية لمقاومة الأمراض ما ذكره (Sharp وآخرين 1984) بخصوص انتاج سلالة جديدة من نبات الدخان نتيجة حدوث تهجين جسمى بين الدخان المنزرع وبعض الأنواع البرية وكانت مقاومة للأمراض .

5 - الاختلافات الجسمية Somatic variation

أن الاختلافات الوراثية التى تظهر فى الخلايا الجسمية للنبات عند زراعة الأنسجة يطلق عليها الاختلافات الجسمية . وهذه الأختلافات التى تحدث فى انسجة الكالوس تمثل آداة هامة فى مجال تحسين المحاصيل لانها تؤدى الى زيادة التباين الوراثى . كما انها تقلل من الفترة اللازمة لانتاج الأصناف الجديدة الى النصف تقريبا بالمقارنة بالطرق التقليدية . وتلعب هذه التقنية دوراً هاما فى مجال انتاج اصناف مقاومة للأمراض والحشرات . وقد ذكر (Karp، 1995) انه أمكن الحصول على أصناف جديدة باستخدام هذه الطريقة . والأختلافات الجسمية قد تشمل على اختلافات فى أعداد الكروموسومات أو وتركيبها أو الطفرات العاملية وغيرها (Brown وآخرون 1993) .

ويتوقف تكوين الاختلافات الجسدية على ما يلى :

1- حالة التضاعف للنبات الأصلى والتى تؤثر على طبيعة وتكرار التغيرات المتحصل عليها، ويذكر (Fish and Karp ، 1986) أنه بصفة عامة فإن النباتات المتعددة التضاعف تعطى اختلافات جسمية أكثر من النباتات ثنائية التضاعف .
2- التركيب الوراثى للنبات حيث أشار (Larkin ، 1987) أن هناك بعض الأصناف لها المقدرة على تكوين أجنة جسمية أكثر من غيرها .
3- طريقة زراعة الأنسجة المستخدمة، فيذكر (Armstrong and Phillips، 1988) ان باستثناء تركيب البيئة المستخدمة فان

انتاج نباتات من البروتوبلاست يعطى اختلافات جسدية اكثر من تلك المتحصل عليها من زراعة الأجنة .

4- مصادر الانسجة النباتية

5- وكذلك الهرمونات المستخدمة فى البيئة .

وتحقق الاختلافات الجسمية بعض المزايا منها أنها من طرق التقنية الحيوية غير المكلفة بالمقارنة بطريقة التهجين الجسمى أو الهندسة الوراثية ، كما انه أمكن الحصول على أصناف جديدة ذات صفات مرغوبة كالمقاومة للأمراض والحشرات باتباع هذه الطريقة (Singsit وآخرون 1990) .

وقد امكن الحصول على اختلافات جسمية فى نبات قصب السكر من خلال زراعة الأنسجة وكانت النباتات الناتجة مقاومة لفيروس Fiji virus وكذلك للمرض المتسبب عن فطر *Helminthosporium sachari* . ولقد انتخب (Xie and Rush، 1990) ثلاثة سلالات من نبات الأرز (Labelle) باستخدام هذه التقنية وكانت مقاومة لمرض Sheath blight واستمرت المقاومة لمدة أربعة سنوات تحت ظروف الأختبار الحقلى وداخل الصوبة ، وواحد من هذه السلالات تفوق فى صفاته المحصولية على الأصناف الموجودة . وقد حصل (Rana وآخرون، 1996) فى الهند على نباتات من القمح مقاومة لمرض صدأ الأوراق (WH147) باستخدام الأختلافات الجسمية .

وفى مجال التربية لمقاومة الحشرات وباستخدام هذه الطريقة امكن انتاج صنف قصب سكر مقاوم لحشرة ثاقبة القصب *Diatraea saccaralis* وكذلك حشرة Fall army worm فى السورجوم.



الفصل الثانى
العلامات المميزة الجزيئية

يتناول هذا الفصل الموضوعات التالية:

+ طريقة القطع المحددة الطول والمتعددة الشكل الظاهرى REFLP
+ طريقة التفاعل المتسلسل لانزيم البلمرة PCR
+ طريقة RAPD
+ طريقة AFLP
+ الأهمية التطبيقية لاستخدام العلامات الجزيئية فى تربية النبات

العلامات المميزة الجزيئية Molecular markers

من المعروف ان هناك بعض الصعوبات والمشاكل التى تواجه مربى النبات أثناء تنفيذ برنامج التربية لنقل الصفات المرغوبة كالمقاومة للامراض والحشرات وغيرها وتتمثل هذه الصعوبات فيما يلى :

- يحتاج مربى النبات الى عدة اجيال (عدة سنوات) many generations needed حتى يمكن نقل الصفة المرغوبة من خلال برنامج التهجين الرجعى أو طرق التهجين الاخرى مثل التهجين مع تتبع النسب أو التهجين التجميعى أو غيرها.
- كثير من الصفات المرغوبة تكون صفات كمية quantitative traits يتحكم فيها العديد من العوامل الوراثية polygenetic .
- تحتاج بعض الصفات الى مجهود كبير من المربى ليتم نقلها كما هو الحال عند التربية لمقاومة الأمراض والحشرات فيلجأ المربى الى استخدام العدوى الصناعية بالمسببات المرضية ومثل هذه العدوى تحتاج الى مهارة خاصة وظروف متحكم فيها وغيرها من العوامل التى تجعل العدوى الصناعية فعالة فى التعرف على النباتات المقاومة للاستفادة بها فى برنامج التربية .
- كثير من الصفات الهامة تتأثر بالتفاعل بين التركيب الوراثى والظروف البيئية السائدة فى المنطقة .

لذلك ظهرت تقنية العلامات المميزة الجزيئية للتغلب على مثل هذه الصعوبات ولتمثل آداة هامة لزيادة فعالية وكفاءة برامج تربية النبات . وقد ذكر McKersi and Brown، 1997 أن التطور الذى حدث فى

طرق اكتشاف العلامات المميزة الجزيئية molecular markers قد أدى الى سهولة التحليل الوراثى للنباتات وتمييز الجينات وامكانية تحسين كثير من صفات النبات مثل المقاومة للأمراض والحشرات وغيرها ، حيث أن استخدام هذه العلامات المميزة يسهل من عمليات الأنتخاب للصفة المطلوبة كما أنها أكثر فعالية من استخدام المعلمات المبنية على الشكل الظاهرى morphological markers ولها أهمية كبيرة جداً فى مجال تربية النباتات لمقاومة الأمراض والحشرات.

وتتميز هذه المعلمات او العلامات الجزيئية بمجموعة من الخصائص يمكن توضيحها كما يلى :-

- أنها معلمات ثابتة stable .
- يمكن اكتشافها فى جميع الانسجة بصرف النظر عن الحالة التى يكون عليها النبات من النمو أو التطور .
- لا تتأثر بالظروف البيئية .
- غالبا لا يظهر فيها التأثير المتعدد pleiotopic effect أو تأثير التفوق epistasis .

وعموما يمكن القول ان هذه المعلمات الجزيئية يمكن استخدامها فى رسم الخرائط الكروموسومية وتحدي البصمة الوراثية وتقييم درجة التباعد الوراثى وغيرها من الأغراض . وتتعدد هذه المعلمات ويمكن عرض أهم انواعها على النحو التالى :

1-طريقة (RFLP)

Restriction Fragment Length Polymorphism

يذكر (Gunnsekaran and Weber، 1996) ان هذه الطريقة فعالة ومفيدة لاكتشاف شظية أو قطعة معينة من الحمض النووى DNA، وهى تنتج عن الاختلافات التى تحدث فى ترتيب النيكلوتيدات بالاحماض النووية للنباتات المختلفة. وفيها يتم عزل الحمض النووى DNA من النسيج النباتى ويتم هضمة باستخدام انزيمات قطع محددة مثل EcoRI أو BamHI أو HindIII أو EcoRV . وتجرى بعد ذلك عملية فصل باستخدام جهاز الاليكتروفوريس مع جيل الأجاروز ثم يتم نقل قطع أو شظايا الـ DNA باستخدام تقنية Southern blotting على أغشية من النيلون Nilon membrane . ثم يضاف بعد ذلك منقب الحمض النووى DNA probe (**شريط مفرد سبق تحضيره من قطعة أو شظية معينة من الحمض النووى ويتم تعليمه باستخدام الفسفور المشع فو^{32}**) حيث يتم التهجين بين المنقب والقطعة (شظية) المقابلة له (تبعا لازدواج القواعد) ويتم بعد ذلك إجراء التصوير بالاشعاع الذاتى ويسمح ذلك برؤية الحزم المتكونة والمتعددة فى الشكل الظاهرى polymorphism ويتم تحديد العلامة المميزة على المستوى الجزيئى . وشكل (8) يوضح مفهوم هذه الطريقة .

رسم rflp

وبـذلك فـإن تقنيـة RFLP تسـاعد المربـى علـى التمييـز بـين الأصـناف وتقييم الأصـول الوراثيـة ، كمـا يمكـن مـن خلالها التعرف علـى العوامـل الوراثيـة المسئولة عن الصـفات المرغوبـة وتحديـد المواقـع الوراثيـة المرتبطـة بالصـفات الكمية Quantitative Trait Loci ، وكذلك تمكن المربـى مـن عمـل الخرائط الوراثيـة والتـى تسـهل علـى المربـى إجراء عمليـات الانتخاب للصفات المرغوبة .

ويلاحظ أن استخدام تقنيـة RFLP تـربط بـين اسـتخدام الوراثـة الجزيئيـة وطرق التربيـة التقليديـة دون الحاجـة الـى انتـاج نباتـات محولـة وراثيا وتجنـب الأخطار التـى قد تنشأ عنها فـى البيئة . الا ان طريقة الـ RFLP تعتبر محـدودة الاسـتخدام بالمقارنـة بـالطرق الاخـرى مـن المعلمـات الجزيئيـة وذلـك يرجع للاسباب التالية :

- تستغرق هذه الطريقة وقت طويل للوصول الى النتائج المطلوبة .
- تحتـاج الـى مهـارة عاليـة داخـل المعمـل خصوصـا أثنـاء اسـتخدام الفسـفور المشـعع واثنـاء عمليـة التهجـين hybridization مـع DNA fragment .
- تعطـى عـدد أقـل مـن الاشـكال المتعـددة polymorhpism بالمقارنة بالطرق الاخرى من المعلمات الجزيئية . وقد ذكر El-Badawy (2001) انه عند استخدام 60 probes فـى تحديد الاشـكال المتعـددة بـين الأبـاء فـان 16 probes هـى التـى أظهـرت الاشـكال المتعـددة polymorphism وحـوالى 10 probes فقط تم استخدامهم فى رسم الخريطة الكروموسومية .

وعموما فانه بأستخدام منقبات وراثية غير مشعة non-radioactive probing وخفض التكاليف تصبح هذه التقنية وسيلة اسرع وأفضل فى تحسين المحاصيل.

2- طريقة التفاعل المتسلسل لانزيم البلمرة (PCR)

Polymerase Chain Reaction

وهى طريقة يمكن من خلالها بناء حمض نووى DNA بالطرق الكيماوية فى أنبوبة اختبار باستخدام جهاز خاص . وهذا يعنى انه باستخدام كمية بسيطة من الحمض النووى يمكن مضاعفاتها وزيادتها الى حوالى مليون ضعف فى عدة ساعات بحيث تنتج كمية تكفى لإجراء الاختبارات والتحليلات المطلوبة .

وفى هذه التقنية يتم بناء DNA جديد باستخدام سلسلتى بادىء من اوليجونيكلوتيدات oligonucleotide بحيث تكون كل واحدة منها مكملة للقواعد النيكلوتيدية الطرفية لكل من سلسلتى الـ DNA وذلك فى وجود انزيم بلمرة أو لحام ذو كفاءة عالية يعرف باسم Taq DNA polymerase .

ويتم الحصول على عدد كبير متضاعف من DNA من خلال إجراء عدة دورات يتم فيها انفراج خيط DNA على درجة حرارة **94**°م فى عملية تعرف باسم Denaturation ، ويتم بناء الحمض النووى الجديد على درجة حرارة **37**°م فى عملية تعرف باسم Annealization ، وكلا من الحمض النووى الجديد والقديم يعملان كقالب يستعمله انزيم البلمرة مرة ثانية فى تكوين حمض نووى جديد. وهكذا بعد عدة ساعات من عملية التدوير والحرارة العالية والمنخفضة تتكون كمية كافية من الحمض النووى DNA . وشكل (9) يوضح ذلك .

وقد امكن الحصول على بعض منقبات الحمض النووى DNA probe مع التفاعل المتسلسل لانزيم البلمرة PCR واستخدمت فى تحديد وتعريف الكثير من المسببات المرضية والآفات الحشرية . وهذه الطريقة أصبحت مفيدة بصفة خاصة فى الحصول على نباتات خالية من الطفيليات والآفات pathogen- free and pest free يمكن الاستفادة بها فى عمليات نقل الجين Gene transfer.

3-طريقة Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

تعتمد هذه الطريقة على استخدام بادىء primer بدلا من استخدام انزيمات القطع كما هو الحال فى تقنية الـ RFLP . وتعتبر هذه الطريقة اسرع فى تحديد درجة الاختلافات الوراثية فى النباتات . ويذكر Williams وأخرون (1990) ان الـ RAPD عبارة عن شظايا من الحمض النووى DNA تم تكبيرها بواسطة تقنية الـ PCR وذلك باستخدام بادئات primers ذات تعاقب عشوائى وبطول 9- 10 قواعد . ويتم فصل هذه القطع (الشظايا) باستخدام الاليكتروفوريسس جل أجاروز . وعلى العكس من معلمات RFLP والتى تكون Codominant نجد ان معلمات RAPD تكون سائدة dominant .

رسم RAPD

ويمكن تلخيص أهم مزايا هذه الطريقة فيما يلى :

- طريقة سهلة وسريعة الإجراء .
- غير مكلفة مقارنة بالطرق الأخرى .
- يمكن استخدام هذه التقنية مع اى جينوم (أى كائن أو نوع) بينما منقبات الـ RFLP تستخدم مع الأنواع القريبة .
- لا تعتمد هذه الطريقة على استخدام منقبات معلمة بالإشعاع ولكنها تعتبر طريقة محورة من PCR .
- تحتاج الى كمية قليلة من الحمض النووى DNA حوالى 5.25 ng .
- الاشكال المتعددة polymorphism الناتجة من هذه الطريقة تكون اكبر من تلك المتحصل عليها من طريقة RFLP .
- يمكن مشاهدة قطع الـ DNA باستخدام الاليكتروفوريسس جل أجاروز ومن ثم تتفادى التكلفة العالية المستغرقة فى عملية التهجين باستخدام المنقبات المعلمة بالإشعاع radiolabelled probes .

ولكن هناك بعض العيوب لهذه الطريقة يمكن تلخيصها على النحو التالى :

- البادىء المستخدم يكون قصير أو محدود من 9- 10 قواعد (9- 10 bases long) .
- نظام توريث المعلمات يكون كأليلات مندلية سائدة dominant markers .

- تتغير النتائج المتحصل عليها باختلاف ظروف إجراء الـ PCR مثل تغيير الجهاز المستخدم أو تغيير درجة الحرارة أو استخدام نوع آخر من انزيم البلمرة Taq polymerase .
- معدل الطفور يكون اعلى فيصل الى 0.8 % بعد 20- 30 دورة .

4-طريقة AFLP

Amplified Fragment Length Polymorphism

يذكر Vos وآخرون (1995) أن هذه الطريقة تعتبر اكفأ من طريقتى RFLP ، RAPD السابق ذكرهما ويمكن استخدامها فى عمل بصمة للحمض النووى دى أن ايه DNA fingerprinting وتحديد التشابه الوراثى للنباتات ويمكن ايضا استخدامها فى عمل الخرائط الكروموسومية وتمييز الأصناف المختلفة . وتتميز هذه التقنية بأن المعلمات فيها تورث على انها partly codominant .

وقد استخدم Ismail وآخرون (1999) هذه التقنية فى دراسة التباعد الوراثى بين ثلاثة سلالات من الذرة الشامية (سلالة 58 قابلة للإصابة بمرض البياض الزغبى) ، السلالة جيزة 307 (قابلة للإصابة بمرض الذبول المتأخر) والسلالة سدس 62 (مقاومة للمرضين) ، وتم رسم الخريطة الكروموسومية لتحديد مواقع الجينات المقاومة لمرض البياض الزغبى والذبول المتأخر. واتضح من نتائج AFLP ان التباعد الوراثى الموجود بين سلالة 58 ، سدس 62 كان اقل من ذلك الموجود بين سدس 62 وجيزة 307 وأن الانعزالات الوراثية مازالت مستمرة فى كلا من سدس

58 وسدس 62 بينما السلالة جيزة 307 فقد وصلت الى حالة الأصالة الوراثية .

وقد ذكر El- Badawy (2001) ان هذه الطريقة تعطى أشكال متعددة polymorphism اضعاف ما هو متحصل عليه من طريقة RFLP ، وبذلك تلعب دورا هاما فى تحديد المواقع الوراثية المرتبطة بالصفات الكمية QTLs . وشكل (10) يوضح مفهوم هذه الطريقة .

5- طريقة Microsatellite

يطلق على هذه الطريقة ايضا Simple Sequence Repeats وتختصر الى SSR ويقصد بها تكرار تتابع معين من النيكلوتيدات داخل الحمض النووى DNA وفى الغالب يكون من 2- 3 نيكلوتيدة. وتنتج الاشكال المتعددة polymorphism نتيجة الاختلاف فى عدد تكرار النيكلوتيدات. ويمكن ان تستخدم هذه التقنية فى رسم الخرائط الكروموسومية ومقارنة مستويات التباين بين الأنواع والعشائر المختلفة وكذلك لها اهمية فى مجال الطب الشرعى وتحديد القرابة (Queller وأخرون 1993) . وعموما تتميز هذه التقنية بمايلى :

- سهل التعرف على هذه المعلمات الجزيئية كما انها تتواجد بوفرة على طول الجينوم .
- تعطى اشكال متعددة اعلى من طريقة RFLP (يذكر El- Badawy، 2001 انها تعطى حوالى ثلاثة اضعاف المتحصل عليه من طريقة الـ RFLP) .

- رسم

- تورث المعلمات كأليلات codominant وهذا يعنى ان هذه المعلمات يكون لها المقدرة على تمييز جميع الاشكال morphs فى الموقع الوراثى وتعطى معلومات اكثر من تلك المتحصل عليها من المعلمات السائدة . وبالتالى يمكنها تمييز النباتات الخليطة فى عوامها الوراثية .

<u>الأهمية التطبيقية لاستخدام العلامات الجزيئية فى مجال تربية النبات:</u>

يمكن تلخيص أهم مزايا استخدام العلامات المميزة الجزيئية molecular markers فى مجال تربية النبات بصفة عامة والتربية لمقاومة الأمراض والحشرات بصفة خاصة فيما يلى :-

1- يمكن من خلالها وصف وتمييز التراكيب الوراثية المختلفة ، فقد ذكر Yu and Pauls (1993ج) انه يمكن استخدام هذه الطرق فى تمييز الأصناف ذات التباعد الوراثى بسهولة . وذكر Barcaccia وأخرون (1994) انه أمكن استخدام RAPD markers فى عمل بصمة fingerprint للتمييز بين النباتات الطافرة . وذكر Pupilli وآخرون (1995) امكانية استخدامها كبصمة لتمييز نواتج التهجين الجسمى بين انواع البرسيم الحجازى الرباعية والثنائية. وكذلك ذكر Vos وآخرون (1995) انه امكن استخدام تقنية AFLP لعمل بصمة للحمض النووى DNA .

2- يمكن استخدامها فى تنقية السلالات النقية كما ذكر ذلك Ismail وآخرون (1999) باستخدام تقنية الـ AFLP .

3- يمكن الاستفادة من هذه الطرق فى تكوين الخرائط الكروموسومية للجينومات المختلفة .

4- يمكن عن طريقها تعليم الجينات الرئيسية tagging of major genes المسئولة عن مقاومة الأمراض والحشرات فى الكثير من المحاصيل

المنزرعة وهذه نقطة هامة جداً حيث انه بمجرد تحديد الجينات المسئولة عن المقاومة لمرض ما يتم عزلها ونقلها الى النباتات الحساسة للإصابة لجعلها مقاومة لذلك المرض ، كذلك يمكن استخدام هذه المعلمات فى تحديد المواقع الوراثية المرتبطة بالصفات الكمية Quantitative Trait Loci (Paterson وآخرون ، 1991ب) .

5- امكانية تعظيم درجة الخلط الوراثى heterozygosity وبالتالى قوة الهجين وذلك باختيار الأباء المتباعدة وراثيا عن طريق العلامات المميزة الجزيئية طبقا لما ذكره (McKersie and Brown، 1997) فى البرسيم الحجازى .

6- يمكن باستخدام هذه الطرق تحسين كفاءة عملية الانتخاب فقد ذكر كل من (McCouch and Tanksles، 1991) أن استخدام الانتخاب المبنى على العلامات المميزة الجزيئية **Marker-assisted selection** يمكن ان يحقق المزايا التالية :-

- أمكانية الانتخاب فى طور البادرة للصفات التى تظهر متأخرة فى مراحل النمو مثل المحصول والعقم الذكرى والمقاومة لبعض الأمراض والحشرات وغيرها .
- سهولة الانتخاب فى حالة الصفات المتنحية والتى تحتاج الى مجهود اكبر فى حالة الطرق التقليدية .
- يمكن إجراء الانتخاب للصفات التى يصعب التربية لها أو تكون مكلفة أو تحتاج لفترة طويلة مثل الصفات المورفولوجية للمجموع الجذري والتربية لسلالات معينة من المسببات المرضية والحشرات والمقاومة للجفاف والملوحة ونقص العناصر الغذائية وغيرها . ونظرا لان الانتخاب لصفة مقاومة الأمراض والحشرات يمكن أجرائه بدون عدوى صناعية فهذا يترتب عليه تجنب أى أخطار قد تنتج من عدم تطبيق العدوى الصناعية بالطريقة السليمة كما انه يمكن

ممارسة الانتخاب فى المناطق التى لا يسمح فيها بإجراء العدوى الصناعية (Melchinger، 1990) .

- أمكانية التمييز بين النباتات الأصيلة والخليطة دون الحاجة الى اختبار النسل (حيث أن معظم العلامات الجزيئية تكون Codominant).
- يمكن إجراء الانتخاب لاكثر من صفة فى نفس الوقت (Liu وآخرون 2000) .
- فى حالة التربية لمقاومة الأمراض والحشرات يمكن استخدام طريقتى السلالات المتعددة multilines وكذلك التربية الهرمية

pyramidingبسهولة ويسر. فعند التربية لمقاومة الأمراض والحشرات باستخدام هاتين الطريقتين يجد المربى صعوبة متمثلة فى الوقت والمجهود اللازمين لانتاج السلالات الأبوية وتكوين الهجن من خلال الطرق التقليدية ، ولكن باستخدام طرق العلامات المميزة الجزيئية يمكن تكوين السلالات الأبوبة عن طريق التهجين الرجعى بطريقة اسرع واكثر فعالية حيث ذكر (Tanksly وأخرون 1988) انه استخدم العلامات الجزيئية فى برنامج التهجين الرجعى تؤدى الى سرعة استرداد التركيب الوراثى للأب الرجعى فى أقل عدد من الأجيال الرجعية وتقليل فرصة انتقال عامل وراثى غير مرغوب مرتبط مع جين المقاومة .

وخلاصة القول ان استخدام المعلمات المميزة الجزيئية يمثل آداة هامة لمربى النبات خصوصا فى الحالات التى تكون فيها طرق التربية التقليدية غير كافية لتحقيق اهداف البرنامج مثل التربية للصفات الكمية

والتـى يـتحكم فيهـا عـدد كبيـر مـن العوامـل الوراثيـة وتتـأثر بشـدة بـالظروف البيئيـة، وكـذلك عنـد الاسـتفادة مـن الجينـات الموجـودة فـى الأنـواع البريـة والمسـئولة عـن الصـفات المرغوبـة مثـل المقاومـة لأمـراض والحشـرات خصوصـا اذا كانـت تلـك الجينـات مرتبطـة مـع صـفات أخـرى غيـر مرغـوب فيها . وهنا تأتى أهمية المعلمات الجزيئية فى تعليم الجينات المسئولة عن الصـفات الهامـة وتحديـد المواقـع الوراثيـة المرتبطـة بالصـفات الكميـة ورسـم الخرائط الكروموسومية مما يساعد المربى على تحقيق اهدافه باسرع الطرق .



الفصل الثالث
تقنية الهندسة الوراثية

يتناول هذا الفصل الموضوعات التالية:

+ طرق نقل الجين

+ دور الهندسة الوراثية فى انتاج أصناف مقاومة للأمراض والحشرات :

1- الأمراض البكتيرية والفطرية

2- الأمراض الفيروسية

3- مقاومة الحشرات

تقنية الهندسة الوراثية Genetical engineering

أن تقنية الهندسة الوراثية Genetical engineering أو ما يطلق عليها Recombinant DNA (DNAالمعاد تركيبه) تمثل آداة هامة وتفتح أفاقا جديدة أمام مربى النبات حيث يمكنه أن يتعامل بمهارة شديدة مع التركيب الوراثى للنبات داخل أنابيب الأختبار للاستفادة من كافة العوامل الوراثية من المصادر المختلفة والتى تكون مسئولة عن الصفات المرغوبة ، ويؤدى ذلك الى زيادة وتنوع الوعاء الجينى gene pool للنباتات المنزرعة من خلال ادخال جينات معينة لم تكن متوفرة من خلال الطرق التقليدية للتربية ، وكذلك تقصير الفترة الازمة لإنتاج أصناف وهجن جديدة (Salamini and Motto ، 1993) . وعلى ذلك فإن المقدرة على إدخال جينات غريبة الى الخلايا النباتية وتطور هذه الخلايا الى نباتات خصبة تقدم لنا فرصة متميزة لتعديل وتحسين المحاصيل الحقلية ولا سيما فى مجال التربية المقاومة للأمراض والحشرات فيما يعرف باسم النباتات المحولة وراثياً Transgenic Plants .

ويذكر Potrykus وآخرون (1998) أنه من الناحية النظرية يمكن لمربى النبات من الآن فصاعدا أن يستفيد بأى صفة من أى كائن حى وفى أى نوع كما يمكن تحديد العضو النباتى الذى تظهر فيه هذه الصفة وبالمستوى المرغوب ، ولكن فى الواقع مازالت هناك مشاكل كثيرة تعترض تحقيق ذلك حيث ان الجينات المسئولة عن الصفات المحصولية الهامة يصعب التعرف عليها وعزلها كما أن تعبير هذه الجينات يعتمد بدرجة كبيرة على تكاملها العشوائى داخل الجينوم النباتى . وعموما لقد حققت الهندسة

الوراثية نجاحا كبيرا فى تحسين كثير من صفات النبات خصوصا تلك التى يتحكم فيها جين واحد أو عدد قليل من الجينات المندلية .

ويعتمد تكوين النباتات المحولة وراثيا على ثلاثة عوامل أساسية هى :

1- التعرف على الجينات المرغوبة وعزلها باستخدام انزيمات معينة تقوم بالتعرف عليها وقطعها بطرقة معينة .
2- تحديد الطرق اللازمة لنقل هذه الجينات المرغوبة الى الخلايا المستقبلة .
3- مقدرة هذه الجينات على التعبير فى الخلايا المستقبلة وليس المهم هو مجرد نقل الجين الى النبات بل ان يتم ذلك بكمية مناسب وان يحدث تكامل بين هذا الجين وكروموسومات النبات .

وسوف نلقى الضوء على الطرق المختلفة التى يتم بواسطتها نقل العامل الوارثى المرغوب الى النباتات المستهدفة ثم نستعرض بعد ذلك دور الهندسة الوراثية فى مجال مقاومة الأمراض الفطرية والبكتيرية والفيرسية ثم الحشرات.

طرق نقل الجين Gene Transfer Methods

يعتمد انتاج النباتات المحولة وراثيا Transgenic plants على طريقة نقل العامل الوراثى المرغوب حيث توجد عدة طرق يتم من خلالها نقل الجين الى النباتات المستهدفة وسنقوم بعرض مبسط لبعض هذه الطرق كما يلى :-

1- طريقة الاصابة بالبكتريا الزراعية

Agrobacterium mediated Gene Transfer

أن بكتريا *Agrobacterium tumefuciens* والتى تسبب مرض التدرن التاجى للجذور فى المحاصيل ثنائية الفلقة تعتبر بلا شك أفضل ناقل طبيعى للعامل الوراثى المرغوب بهدف انتاج النباتات المحولة وراثيا. فهذه البكتريا لها المقدرة على نقل جزء من البلازميد والذى يطلق عليه Ti-plasmid الى الجينوم النووى للخلايا النباتية حيث يتكامل هذا البلازميد والذى يطلق عليه Transferred DNA(T-DNA) مع جينوم النبات العائل وينتقل الى نسل النباتات المحولة وراثيا بطريقة مندلية (Potrykus وآخرون ، 1998) . ولقد اتبعت هذه الطريقة فى كثير من المحاصيل الحقلية مثل فول الصويا والقطن والبرسيم الحجازى والطماطم وغيرها نباتات ذات الفلقتين ، ولكن فعالية هذه الطريقة تختلف كثيرا وتتوقف على مجموعة من العوامل مثل : النوع النباتى – التركيب الوراثى للنبات – سلالة الأجروبكتريم المستخدمة – الحالة الفسيولوجية للنبات المعطى donor – طريقة زراعة الأنسجة المستخدمة ، وغيرها من العوامل .

ويذكر Klee and Rogers (1989) أنه بعد تنمية بكتريا الأجروبكتريم على الأنسجة النباتية تنقل النباتات الى بيئة تحتوى على مضادات حيوية لقتل البكتريا وللتمييز بين النباتات المحولة وراثيا عن غير المحولة . ولزيادة معدل العدوى بسلالة البكتريا يمكن استخدام وسائل ميكانيكية مثل الملاقط أو استخدام بودرة الكاربوراندم لعمل جروح فى النبات الأصلى . وهناك بعض المواد الكيماوية مثل الجلوكوز أو Xylose أو acetosyringone يمكنها تنشيط عملية العدوى بسلالة بكتريا الاجروباكتيريم ومثل هذه المواد تتواجد طبيعيا عند حدوث جرح فى خلايا النبات وتلعب دورا هاماً فى حدوث العدوى (Cangelosi وآخرون

1990). وكثيرا من نباتات ذات الفلقة الواحدة لا تنتج مثل هذه المواد وربما يفسر ذلك عدم امكانية نقل الجين فى هذه النباتات باستخدام سلالات الاجروبكتريم (Potrykus وآخرون ، 1998) .

2 – البروتوبلاست والنقل المباشر

Protoplast and Direct Gene Transfer

يذكر (Paszkowski وآخرون ، 1984) أن استخدام هذه الطريقة فى نقل الجين لا يحتاج الى ناقل بيولوجى كما هو الحال فى بكتريا الأجروبكتريم فعملية نقل الجين تكون عملية فيزيائية وبذلك يتم التغلب على مشكلة تحديد مدى معين من العوائل النباتية التى تستخدم فيها هذه الطريقة بمعنى انها يمكن ان تستخدم فى مدى واسع من النباتات سواء كانت ذات فلقة واحدة أو ذات فلقتين . ويذكر (Potrykus وآخرون ، 1998) أن وجود مادة Polyethylene glycol والتى يرمز لها بالرمز (PEG) يسمح للأحماض النووية بالدخول الى بروتوبلاست النبات . ومن العوامل الهامة التى تحدد فعالية نقل الجين بواسطة طريقة PEG هو تركيز أيونات المنجنيز والكالسيوم وتركيز مادة PEG .

كذلك يمكن استعمال النبضات الكهربائية القصيرة ذات الجهد العالى electroporation لتحقيق ذات الهدف . وفيها يتم استخدام نبضات كهربائية عالية الجهد لفترة قصيرة لعمل ثقوب فى الغشاء الخلوى مما يسمح بدخول الـ DNA الغريب دون أن يؤثر ذلك على حيوية الخلايا النباتية . ولكى تتم عملية التحول فهناك طريقتين أما استخدام نبضة كهربائية عالية الجهد لفترة قصيرة حوالى 1500 V/ cm لمدة 10 ثوانى أو نبضات ذات جهد كهربائى أقل مع مدة أطول أى 350 V/cm لمدة 54 ثانية (Shillito وآخرون، 1985). وأذا اضيفت مادة PEG الى

النبضات الكهربائية العالية الجهد يؤدى ذلك الى تحسين فى عملية التحول الوراثى .

3- طريقة Biolistics

وقد يطلق عليها particle gun وتعتمد هذه الطريقة على التحريك السريع للحبيبات الدقيقة التى تحمل الجينات المرغوبة الى داخل الخلايا أو الأنسجة (Sanford، 1988) واحيانا يطلق عليها gene gun بندقية العامل الوراثى أو particle gun . وفيها تستخدم جزيئات دقيقة (0.3 – 0.5 ميكرون) من معدن التنجستين أو الذهب وتكون مغطاة بالحامض النووى ويتم دفع هذه الجزيئات microprojectiles الى داخل الخلية حيث تخترق الجدار الخلوى وعندئذ يتم فصل جزيئات الحامض النووى DNA لتتكامل مع الجينوم النووى للنبات . وهى طريقة فعالة ولا تعتمد على نوع النسيج المستخدم ، وتحقق هذه الطريقة المزايا التالية :

1- طريقة سهلة وسريعة .
2- يمكن من خلالها نقل الجينات الى عدة خلايا one shot yields many hits .
3- يمكن للخلايا ان تتحمل عملية اقتحام الجزيئات لها .
4- الجينات المتحركة الى داخل الخلية يمكنها استئناف النشاط البيولوجى .
5- تعمل بكفاءة سواء على السطح أو فى الطبقات الغائرة للأعضاء النباتية المختلفة .

4- طريقة الحقن الدقيق Microinjection

وفيها يتم استخدام أنبوب شعرى ميكروسكوبى صغير جداً مصنوع من الزجاج قطره يتراوح من ميكرون واحد الى عدة ميكرونات وذلك بحقن محلول الـ DNA الى السيتوبلازم أو الى نواة الخلية الحية ، والطريقة تجعل الخلية التى تم حقنها تستمر فى النمو والتكاثر (Neuhaus and Spangenberg 1993) .

وقد استخدمت هذه الطريقة بنجاح فى الحصول على نبات محول وراثيا فى بروتوبلاست البرسيم الحجازى ووصل معدل الحصول على نباتات محولة وراثيا 30% وفى خس الزيت وصل المعدل الى 80% (Neuhaus وآخرون، 1987) . وبالمقارنة بطريقة Biolistics نجد أن هذه الطريقة تحتاج الى مهارة أعلى وآدوات اكثر كما أن خلية واحدة هى التى تستقبل جزىء DNA فى كل عملية حقن ، ولكنها تحقق مجموعة من المزايا وهى :

1- يمكن التحكم فى كمية الـ DNA المراد ادخالها الى الخلية .
2- يمكن للباحث أن يحدد الخلية التى يقوم بحقنها بالـ DNA .
3- عملية حقن الـ DNA تكون دقيقة وتحت التحكم المرئى under visual control .
4- يمكن استخدامها حتى فى حالة الخلايا ذات التراكيب الصغيرة مثل الميكروسبور microspores وغيرها .
5- يمكن استخدامها مع أنواع وأصناف مختلفة .

5- طريقة Microtargeting

أن كفاءة استخدام طريقة بكتريا الأجروبكتريم وطريقة الحقن الدقيق microinjection وكذلك طريقة Biolistics فى عملية نقل العامل

الوراثى الى خلايا القمة النامية للفرع الخضرى لم تحقق النجاح المطلوب . ولذلك تم استخدام جهاز جديد يسمح بتوجيه جزيئات microprojectiles الى المساحات الصغيرة جداً فى القمة النامية لبادرات المحاصيل النجيلية (Sautterوآخرون، 1991) . وهذا الجهاز يجمع بين مزايا طريقة الحقن الدقيق (حيث يمكن تحديد مكان وصول الـ DNA) ومزايا طريقة Biolistics (حيث يتم نقل الجينات الى عدة خلايا مرة واحدة) . ونظرا لان القمة المرستيمية للفرع الخضرى تمثل تراكيب دقيقة جدا وتكون من خلايا صغيرة جداً فهناك بعض النقاط الواجب مراعاتها للتغلب على المشاكل الفنية التى قد تظهر عند استخدام هذه الطريقة فيما يلى :-

1- يجب العمل على اسراع حركة الجزيئات حتى تصل الى منطقة الهدف .
2- يجب أن يكون الجزيئات متماثلة فى الحجم .
3- يجب وصول هذه الجزيئات الى الهدف فى صورة جزيئات مفردة .
4- قدرة هذه الجزيئات على اختراق الهدف يجب ان تكون متغيرة ويمكن التنبؤ بها .
5- تتميز الجزيئات بقدرتها على حمل الـ DNA والعمل على وصوله الى خلية الهدف وأطلاقه بكفاءة عالية (Potrykus ، 1998) .

ويذكر Sautter وآخرون (1991) أنه أمكن استخدام هذه الطريقة بنجاح فى الحصول على نباتات محولة وراثياً تحمل الصفات المرغوبة .

6- طريقة شعرات السيليكون Silicon Whiskers

حيث يتم استخدام ابرة ميكروسكوبية صغيرة جداً من شعرات السيليكون لاختراق الجدار الخلوى والوصول الى الخلية والبروتوبلاست وفيها يتم ببساطة خلط مجموعة شعيرات السيليكون مع الخلايا النباتية فى انبوبة اختبار وتتم عملية الرج لفترة محددة وهذا بفتح الطريق لانتشار الـ DNA فى الخلايا النباتية (Kaeppler وآخرون، 1992) . وقد أمكن الحصول على بعض النباتات المحولة وراثيا فى الذرة الشامية باستخدام هذه الطريقة .

دور الهندسة الوراثية فى انتاج أصناف مقاومة للأمراض والحشرات

أولا: الأمراض البكتيرية والفطرية :

ذكر Ali وآخرون (1992) انه أمكن الحصول على نباتات قمح محولة وراثيا ومقاومة لمرض صدأ الأوراق والمتسبب عن الفطر *Puccinia recondita* .

وفى هذا الصدد يذكر Johel and Briggs (1992) أنه أمكن كلونة جين *Hm1* فى الذرة لمقاومة سلالة رقم (1) للمسبب المرض *Cochliobolus carbonarum* وحيث ان سلالة المرض تنتج توكسين يعرف باسم HC toxin والجين *Hm1* يشفر لانزيم معين يقوم بتحليل هذا الاكسين ، وهذا التفاعل يختلف عن التفاعل الذى سبق دراسته وهو الجين مقابل الجين فى أن صفة الضراوة للطفيل سائدة وان المقاومة لا تظهر تفاعل الحساسية الفائقة . وكان هذا العمل برهان على أهمية استخدام الهندسة الوراثية فى امكانية ادخال جينات المقاومة والتى تثبط فعل التوكسينات التى ينتجها الطفيل وتكون متخصصة على عائل معين .

وقد حصل Martin وآخرون (1993) على جين Pto فى الطماطم وهو مسئول عن مقاومة المرض البكتيرى المتسبب عن *Pseudomonus*

syringae pv. Tomato ، وكـان هـذه الجين سـائدا وأظهـر النبـات مقاومـة من نـوع الحساسية الفائقة وتم كلونـة (أى عمل نسخ خضرية عديدة طبق الأصل) هذا الجين من الطماطم باستخدام طريقة Map-based cloning.

ويذكر Salamini and Motto (1993) أنـه أمكن استخدام طريقة Transposon Tagging لعزل جينين من الذرة الشامية Rp1 ، Hm1 لإحداث المقاومة لمرض صدأ الأوراق المتسبب عن الفطر *Puccinia sorghi* ومـرض تبقـع الأوراق المتسـبب عـن الفطـر *Helminthosporium carbonum*. ويـذكر Lawrence وأخـرون (1995) انه أمكن كلونة جين L6 فى الكتان والذى أظهر مقاومة لمرض صدا الكتان المتسبب عن الفطر *Melampsora lini* وتم كلونـة هذا الجين باستخدام طريقة transposon . وكان هذا الجين سائدا وأظهرت المقاومة تفاعل الحساسية الفائقة .

<u>ثانيا : دور الهندسة الوراثية فى مقاومة الأمراض الفيروسية</u>

يمكـن للهندسـة الوراثيـة أن تلعـب دورا هامـا فـى احـداث المقاومـة للأمراض الفيروسية من خلال نقل الجين أو الجينات المسئولة عن المقاومة باتباع الوسائل التالية :-

<u>1- طريقة الغلاف البروتينى للفيروس :</u>

Coat protein (CP) mediated resistance

وهى من أوسع طرق مقاومة الفيروس انتشارا باستخدام طرق الهندسة الوراثيـة ، وفيها يـتم ادخـال الجـين الفيروسـى الـذى تكـون لـه المقدرة علـى تمثيل الغلاف البروتينى للفيروس (CP) الـى جينوم النبـات العائل وتحويلـه الى نبات مقاوم ليس فقط للفيروس الذى أخذ منه جين الغلاف البروتينـى

(والتى يطلق عليها مقاومة Homologous) بل مقاوما لبعض الفيروسات الأخرى (والتى تسمى مقاومة Heterologus) (عن Beachy وآخرون ، 1990) .

وقد قام Powell Abel وأخرون (1986) بإنتاج نباتات دخان محمولة وراثيا بهذه الطريقة وكانت مقاومة لفيروس موزيك الدخان TMV . كما تم ايضا انتاج نباتات محولة وراثيا وكانت مقاومة لمدى واسع من الفيروسات النباتية مثل موزايك البرسيم الحجازى فى الدخان والطماطم وغيرها (Cuozzo وأخرون 1988) .

ويذكر Wisniewski (1990) ان ميكانيكية حدوث المقاومة نتيجة لنقل الغلاف البروتينى CP للفيروس غير مفهومة وربما يرجع ذلك الى تأثير الغلاف البروتينى للفيروس على معدل تكرار الفيروس وانتشاره replicate and spread فى النباتات المحولة . وتختلف ميكانيكية حدوث تأثير الغلاف البروتينى من مجموعة فيروسية الى مجموعة أخرى بل وتختلف من فيروس الى فيروس آخر داخل نفس المجموعة (Beck وأخرون 1993) .

وقد ذكر Mirkov وأخرون (1997) انه أمكن استخدام هذه التقنية فى إدخال صفة المقاومة لفيروس موزايك قصب السكر ، والنباتات المحمولة وراثيا أجرى لها عملية العدوى الصناعية بسلالة الفيروس ستة مرات ولكنها ظلت خالية من الفيروس .

2- طريقة Viral Satellite RNA

يذكر Tien and Wu (1991) أن المقصود بالتابع Satellite هو انه جزء من الحمض النووى DNA طوله لا يتجاوز 500

نيوكليتيدة وهو غير ضرورى لتكاثر الفيروس ولكن وجود هذا التابع يؤثر علـى ظهـور الأعـراض الفيروسـية سـواء بالزيـادة أو بـالخفض، وميكانيكيـة حـدوث هـذا التـأثير غيـر معروفـة جيـدا . وقـد قـام Jacquemond وأخـرون (1988) بنقل هـذا التـابع مـن الفيـروس وانتـاج نباتـات خيـار محولـة وراثيا وكانت أعراض الاصـابة عليها بفيروس موزايك الدخان اقل من النباتات العادية .

3- طريقة Antisense - RNA

يذكر Bains (1998) ان المقصود بالـ Antisense- RNA هو انـه حمض نـووى ر.ن.أ مضـاد المعنـى وهـو عبـارة عن شريط مفرد مـن حمض نووى يتكامل مع الحمض النووى المراسل mRNA وبالتالى فانـه يحمل ترتيب معكوس للنيكلوتيدات (antisense) ، وبتواجد الحمض النووى المراسل (sense) مع الحمض النووى مضاد المعنى (antisense) يحدث بينهما تهجين (RNA- RNA hybrids) ويتكون جزىء مزدوج من الحمض النووى ر.ن.أ (double helical RNA) مما يترتب عليه عدم القدرة على ترجمة الشفرة الوراثية ولا يستطيع الجين ان يعبر عن نفسه فلا يتكون البروتين المطلوب.

وقد تم نقل الـ antisense RNA الخاص بالفيروس الى النباتات كوسيلة لإدخـال صـفة المقاومـة للفيروسـات خاصـة فيـروس موزايك الخيـار (Cuozzo وأخرون 1988) ، وكذلك فيروس موزايك الدخان (Powell Abel وأخرون 1989) .

ثالثا : دور الهندسة الوراثية فى مقاومة الحشرات

ان التربية لمقاومة الحشرات واستخدام طرق المقاومة الحيوية يعتبران مـن الطـرق البديلـة لاسـتخدام المبيـدات الحشـرية وكـلا الطـريقتين يمكـن تحسينهما من خلال تقنية الهندسة الوراثية . ولقد تم تحديد مجموعة عديدة من جينات العائل والتى تظهر مقاومة لعدد من الحشرات باستخدام الطرق التقليديـة مـن التربيـة ، ولكـن مـازال هنـاك العديـد مـن الحشـرات لـم يصـل المربـى بعـد الـى ايجـاد جينـات فـى النبـات العائـل تكـون مقاومـة لمثـل تلـك الحشرات بالاضافة الى ظهور السلالات الجديدة من الآفات الحشرية والتـى قـد تـؤدى الـى فقد المقاومـة الوراثيـة فـى المحاصـيل المنزرعـة . ومـن هنـا جـاءت أهميـة الاستفادة من تقنيـة الهندسـة الوراثيـة فـى انتـاج نباتـات محولـة وراثيا وتكون مقاومة للحشرات السائدة . وسوف نتناول ذلك من خـلال دور كـل مـن البكتريـا المسئولة عن انتـاج الاندوتوكسينات وغيرهـا مـن مثبطـات البروتيز على النحو التالى :-

1- استخدام بكتريا *Bacillus thuringiensis* (Bt)

أن بكتريـا *Bacillus thuringiensis* لهـا المقدرة علـى إنتـاج تركيبـات بروتينيـة تشـبه الكريسـتال وبعـض هـذه البروتينـات Crystal proteins تمثـل مبيدات للحشرات ويطلـق علـى هذا البروتينـات (Bt toxins) وتعرف باسم endotoxins أو protoxins وتقسم هذه المواد حسب التخصص والحجم الى ما يلى (عن Hotte and Whittey ، 1989) :

- Cry I and Cry III وهى سامة لرتبة Lepidoptera
- Cry II and Cry IV وهى سامة لرتبة Diptera
- Cry III وهى سامة لرتبة Coleoptera

وكل هذه المواد تتحول الى توكسينات نشيطة (Bt-δ) endotoxins داخل القناة الهضمية ليرقات الحشرات نتيجة تأثير انزيمات البروتيز protease وتتسبب هذه التوكسينات فى موت الحشرة . ويذكر كثير من العلماء انه أمكن استخدام هذا التكنيك فى انتاج نباتات مهندسة وراثيا وتحمل مقاومة لبعض الحشرات السائدة وبدأ ينتشر استخدام هذه الطريقة على نطاق واسع . وفى هذا الصدد يذكر Perlak وآخرون (1990) أنه أمكن انتاج نباتات محولة وراثيا تحمل جينات تشفر لتكوين التوكسينات السابقة وأصبحت هذه النباتات مقاومة لمدى واسع من الآفات الحشرية . فقد أمكن كلونة جين Bt وتم نقله الى نبات القطن لمقاومة حشرات Lepidoptera .

وبهذه الكيفية تم نقل جين Bt gene الى نبات الذرة الشامية والذى جعله مقاوم لحشرة الثاقبات الأوربية ، ومما هو جدير بالذكر ان هناك الأن مساحات شاسعة من الذرة الشامية تزرع بنباتات محولة وراثيا لمقاومة الثاقبات باستخدام هذه الطريقة .

وفى الدخان امكن نقل جين Bt لمقاومة حشرة tobacco hornworm (Vaeck وآخرون، 1987) . وفى نبات الأرز أمكن نقل جين Bt المسئول عن مقاومة حشرة Striped stem borer .

2- استخدام جينات Protease Inhibitors

بعض النباتات يمكنها انتاج مواد بروتينية يطلق عليها مثبطات البروتيز Protease Inhibitors (PIs) وعلى العكس من Bt-δ endotoxins فإن هذه البروتينات تعمل على مدى واسع من الأنواع الحشرية . وقد قام Gatehouse وآخرون (1980) بعزل الجين المسئول

عن انتـاج مثبطـات التربسين Trypsin inhibitor (من مثبطـات البروتيز) فى نبات لوبيا العلف وهذه المثبطات كانت فعالة ضد خنفساء Bruchid المتسببة عن *Callosobruchus maculatus* وغيرها من الحشرات التى تتبع أجناس مختلفة مثل : Heliothis , Spodoptera, Diabrrotica, Tribollium.

ويذكر Hilder وآخرون (1987) أن انتـاج الجينـات التـى تشـفر لتكوين هذه المثبطـات PIs قد أعطـت مستويات عاليـة مـن مقاومـة الحشـرات وانـه امكنـه انتـاج نباتـات دخـان محولـة وراثيـا تحمـل الجين الـذى يشفر لتكوين مثبطـات التربسين (CpTI) وكانت هذه النباتات مقاومة ليرقات حشرة budworm (*Heliothis virescens*) .

وفى هذا الصدد يذكر Micheal وآخرون (1998) انه تجرى حاليا مجهودات لهندسة جينات مثبطات البروتيز Protease Inhibitors لأن ادخال هذه الجينـات الـى النباتـات التـى ليست لهـا المقدرة علـى انتـاج هذه البروتينـات اصـلا سوف تكون طريقـة فعالـة للحصـول علـى نباتـات مقاومـة لهجوم الآفات الحشرية .

ورغـم كفـاءة هـذه الطريقـة فـى انتـاج نباتـات محولـة وراثيـا تتميـز بمقاومتها للحشرات الا انه يعاب عليها انها تحتاج الى مستويات عالية من البروتين حتى تحدث التاثير الضار للحشرة .

3- بروتينات Lectins

وهـى مجموعـة مـن البروتينـات النباتيـة التـى ترتبط بالكربوهيدرات بمـا فيها الكايتين chitin ، وبعض هذه البروتينات لها المقدرة علـى توفير الحماية للنبات ضد هجوم الحشرات (Chrispeels and Ranikhel،

1991) ، فعلى سبيل المثال فإن بروتين Acrelin- I (وهو Lectin) قد وجد فى نبات الفاصوليا وله تأثير سام على حشرة الفاصوليا (*Zabraates subaassciatus*).

وذكر Wilkins and Raikhel (1989) ان نباتات الأرز التى تحتوى على Lectins لها ميكانيكية دفاعية مشابهة وتظهر درجة من المقاومة ضد بعض الآفات الحشرية السائدة .

4- الالفا أميليز α amylase

وجد أن بذور نبات الفول تحتوى على مثبط يطلق عليه α amylase واليه تعزى المقاومة ليرقات خنفساء البذور seed- feeding beetles وسوسة لوبيا العلف (*Callosobrruchus maculattis*) وسوسة Azuki bean weevil(*Callosobrruchus chinenis*) وكانت النباتات المحولة وراثيا تظهر درجة كبيرة من المقاومة لهذه المسببات الحشرية (عن Shade وآخرون ، 1994) .

ونباتات البسلة المحولة وراثيا أحتوت على 1.2% من بروتين α amylase فى بذورها وكانت مقاومة لكلا النوعين من الحشرات (خنفساء لوبيا العلف وخنفساء الفول Azoki) وكانت حشرة الخنفساء الثانية اكثر حساسية لمثبط α amylase وتركيز 0.1% أعطى نسبة نفوق 100% بينما أحتاجت خنفساء لوبيا العلف الى تركيز 0.8 - 1% للوصول الى نفس التأثير .

+++

قائمة المراجع

Ali, A.M.H.; M.A. El- Hennaway, H.K. El- Kholy and A. Hagran 1992. Genetically engineered sodium chloride and *Puccinia recondita* tolerant wheat cells and plants. Egypt. J. Appl. Sci., 7(8): 675- 690.

Allard, R.W. 1960. Principles of plant breeding. John Wiley& Sons, Inc. New York, London, Sydney,

Arcion, S.; M. Piccirilli and F. Lorenzetti 1992. The biotechnological approach to the genetic improvement of polyploid forage species. Rivista si Agronomia 26(2): 192- 201.

Armstrong, C.L. and R.L. Phillips 1988. Genetics and cytogenetics variation in plants regenerated from organogenic and friable embryo genic tissue cultures of maize. Crop Sci. 28: 363- 369.

Bains, W. 1998. Biotechnology from A to Z. Oxford, New York, Tokyo, Oxford Univ. Press. Pp. 340.

Barcaccia, G.; S. Tavoletti, M. Pezzotti, M. Falcinelli and F. Veronesi 1994. Fingerprinting of alfalfa meiotic using RAPD markers. Euphtica 80: 19- 25.

Bauchan, G.R. 1987. Embryo culture of Medicago scutellata and M. sativa. Plant Cell Tissue and Organ. Culture, 10: 21- 29.

Beachy, R.N.; S. Loesch- Fries and N.E. Tumer 1990. Coat protein- mediated resistance against virus infection. Ann. Rev. Phytopathol. 28: 451- 474.

Beck, D.L.; C.J. Van Dolleweerd, B. Dadas; D.W.R. White and R.L.S. Forster 1993. Coat protein- mediated protection against white clover mosaic virus and potates cirus X in tobacco. Proceedings of the XVII International Grass Land Conference, pp. 1173- 1175.

Berersdorf, W.D. 1990. Micropropagation in crop species. Pages 3- 12 in Progress in Plant Cellualr and Molecular Biology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.

Borlaug, N.E. 1965. Wheat, rust and people. Phytopathology 55: 1088- 1098.

Brown, P.T.H.; F.D. Lange, E. Kranz and H.Lorz 1993. Analysis of single protoplast and regenerated plants by PCR and RAPD technology. Mol. Gen. Genet. 237: 311- 317.

Cangelosi, G.A.; R.G. Ankenbauer and E.W. Nesta 1990. Sugars induce the Agrobacterium virulence genes through a periplasmic binding protein and a transmembrane signal protein. Proceedings of the National Academy of Science USA 87: 6708- 6712.

Chang, S.S.; S.K. Park; B.C. Kim; B.J. Kang; D.U. Kin and H.G. Nam 1994. Stable genetic transformation of Arabidopsis thaliana by Agrobacterium inoculation in plants. Plant J. 5: 551- 558.

Chaudhary, R.C. 1986. Introduction to plant breeding. Oxford& IBH Publishing Co. New Delhi, Bombay and Calcutta.

Chrispeels, J.J. and A.N. Ranikhel 1991. Lectins, lectin genes and their role in plant defense.

Cocking, E.C. 1979. Parasexual reproduction in flowering plants. New Zealand J. Bot. 17: 665- 671.

Cuozzo, M.; K.M. O’Connell; W. Kaniewski; R.X. Fang; N.H. Chua and N.E.Tumer 1988. Viral protein in transgenic tobacco plants expressing the cucumber mosaic virus coat protein or its antisense RNA. Biotechnology, 6: 549- 557.

Damiani, F.; M. Prezzotti and S. Arcioni 1988. Electric field mediated fusion of protoplast of *medicago sativa*, L. and *M. arborea* L. J. of Plant Physiology 123: 474- 479.

Day, P.R. 1974. Genetics of host- parasite interaction. W.H. Freeman, San Francisco, 238 pp.

El- Badawy, M.E.M. 2001. Localization and character-ization of quantitative trait loci for fusarium head blight resistance in wheat by means of molecular markers. Ph D. Thesis, Technical University Munich, Freising Weithenstephan, German.

El- Laithy, A.Y.M. 2000. Resistance in plants to infestation of mite pests with reference to genetical engineering. Review Article. National Research Center, Giza, Egypt. Pp. 40.

Fehr, W.R. 1987. Principles of cultivar development. Macmillan Publishing Co. New York.

Filippone, M.L.; M.L. Lene and R. Penza 1992. Recent advances in cell and tissue culture. In: Biotechnology: Enhancing Research on Tropical Crops in Africa. Thottappilly, L.M.; D.R. Mohan Raj, A.W. Moore (eds.). Ebenezer Baylis & Son Ltd UK, pp. 105- 116.

Fish, N. and A. Karp 1986. Improvement in regenerations from protoplast of potato and studies on chromosome stability. 1. The effect of initial culture . Theoretical and Applied Genetics, 72: 405- 412.

Flor, H.H. 1956. The complementary genic systems in flax and flax rust. Adv, in Gen. 8: 29- 54.

Flor, H.H. 1971. Current status of the gene- for- gene concept. A. Rev. Phytopathol. 9: 275- 296.

Foroughi- Wehr, B. and W. Friedt 1984. Rapid production of recombinant barley yellow mosaic virus resistant *Hordium vulgare* lines by anther culture. Theoretical and Applied Genetics. 67: 377- 382.

Gangopadhyay, S. and S.Y. Padmanabhan 1987. Breeding for disease resistance in rice. Oxford& IBH Publishing Co. PVT Ltd.

Gatehouse, A.M.r.; J.A. Gatehouse and D. Boulter 1980. Isolation and characterization of trypsin inhibitors from cow pea (*Vigna unguiculate)*. Phytochemistry, 19: 751- 756.

Gunnsekaran, M. and D.J. Weber 1996. Molecular Biology of the Biolgical Control of Pests and Diseases of plants. CRC Press Inc.

Harlon, J.R. and De Wet, M.M. 1971. Toward a rational classification of cultivated plants. Taxon. 20: 509- 517.

Harrison, B.D.; A. Mayo and D.C. Baulcombe 1987. Virus resistance in transgenic plants that express cucumber mosaic virus satellite RNA. Nature, 328: 799- 802.

Hayward, M.D.; N.O. Bosemark and I. Romagwa 1993. Plant Breeding– Principles and prospects. Chapman& Hall London, London, Glassgow, New York, tokyo, Melbourne, Madras.

Hemenway, C.; R.X. Kaniewski; N.H. Chna and N.E. Tuner 1988. Analysis of the mechanism of protection in transgenic plants expressing the potato virus x coat protein or its antisense RNA. EMBO J. 7: 1273- 1280.

Hilder, V.A.; A.M.R. gatehouse; S.E. Sheerman; R.E. Barker and D. Boulter 1987. A noval mechanism of insect

resistance engineered into tobacco. Nature, 330: 160-163.

Hooker, A.L. 1974. Cytoplasmic susceptibility in plant disease. Annu. Rev. Phytopathol. 12: 167- 179.

Hotte, H. and H.R. Whittey 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. Microbiological Reviews, 53: 242- 255.

Hu, H. and J.Z. Zeng 1984. Development of new varieties via anther culture, p. 65- 90. In: Handbook of plant cell culture. Vol. 3 Ammirato, P.V.; D.A. Evans, W.R. Sharp and Y.Y. Yamada (eds.). Macmillan, New York.

Ismail, A.A.; A.H. Ellingboe and A.L. Abdel Mawgood 1999. Genetic diversity between three inbred lines of maize (*Zea mays* L.) as revealed br AFLP technique. Egypt. J. Plant Breed. 3 : 329- 335.

Johal, G. and S.S. Briggs 1992. Reductase activity encoded by the HM1 disease resistance gene in maize. Science: 258: 985- 987.

Jacquemond, M.; J. Amselem and M. Tepfer 1988. A gene coding for a monomeric form of cucumber mosaic virus satellite RNA confers tolerance to CMV. Molecular plant Microbe Interaction 1: 311- 316.

Jorgensen, J.H. 1983. Experience and conditions from the work at Riso on induced mutations for powdery mildew resistance in barley. In: induced mutations for disease resistance in crop plants. II. LAEA, Vienna, pp. 73- 87.

Kaeppler, H.F.; D.A. Somers, H.W. Rines and A.F. Cockburn 1992. Silicon carbide fiber- mediated stable transformation of plant cells. Theoretical and Applied Genetics, 84: 560.

Karp, A. 1995. Somaclonal variation as a tool for crop improvement. Euphytica 85: 295- 302.

Klee, H.J. and S.G. Rigers 1989. Plant gene vectors and transformation: Plan transformation systems based on

the use of *Agrobacterium tumefaciens*. Pages 2- 25 in Cell Culture and Somatic Cell Genetics, 6. Molecular Biology OF Plant Nuclear Genes. Edited by J. Schell and I.K. Vasil. Academic Press, San Diego, USA.

Knott, D.R. 1989. The effect of transfers of alien genes for leaf rust resistance on the agronomic and quality characteristics of wheat. Euphtica, 44: 65- 72.

Kogan,M.; E.E. Ortman 1978. Antixenosis- a new term proposed to replace Painter’s non preference modality of resistance. Bull. Entomol. Soc. Am. 24: 175- 176.

Larkin, P.J. 1987. Somaclonal variation: history, method and meaning. Iowa Journal & Research, 64: 393- 434.

Lawrence, G.J.; J. Finnegan, M.A. Ayliffe and J.G. Ellis 1995. The L6 gene for flax rust resistance is related to the Arabidopsis bacterial resistance gene RPS2 and the tobacco viral resistance gene N. Plant Cell, 7: 1195- 1206.

Liu, J.; D. Liu, W. Tao, W. Li; S. Wang; P. Chen; S. Cheng and D. Gao (2000). Molecular marker- facilitated pyramiding of different genes for powder mildew resistance in wheat. Plant Breeding 119: 21- 24.

Martin, G.B.; S.H. Brommonshenkel, J. Chunwongse, A. Frary, M.W. Ganal, R. Spivey, T. Wu, E.D. Earle and S.D. Tanksley 1993. Map- based clonning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato. Science 262: 1432- 1436.

Mayo, O. 1987. The Theory of Plant Breeding. Clarendon Press. Oxford.

McCouch, S.R. and S.D. Tanksles . 1991. Development and use of Restriction Fragment Length Polymorphism in Rice Breeding and genetics. In: Rice Biotechnology, Khush, A.S. and G.H. Toenniessen CAB OXI) 8 DE, UK.

McKersie, B.D. and D.C.W. Brown 1997. Biotechnology and the improvement of forage legumes. Cab International, Walling Ford, Oxon, OXIO 8 DE UK.

McKersie, B.D. and S.R. Bowly 1993. Synthetic seeds in alfalfa. In Application of synthetic seeds to Crop Improvement, Redenbaugh, K. (ed.), CRC Press, Boca Raton, pp. 231- 255.

McKersie, B.D.; T.Senaratna; S.R. Bowley; D.C.W. Brown; J.E. Knochko and J.D. Bewley 1989. Application of artificial seed technology in the peoduction of hybrid alfalfa (*Medicago sativa* L.) In Vitro Cellular and Development Biology 25: 1183- 1188.

Melchinger, A.E. 1990. Use of molecular markers in breeding for monogenic disease resistance. Plant Breeding, 104: 1- 19.

Micheal, G.K.; N.. Carozei and G.W. Warren 1998. Transgenic plants for the control of insect pests. In: Agricultural Biotechnology, A. Altman (ed.), Marcel Dekker, INC. pp. 283- 294.

Mirkov, T.; Erik; Y. Zhong; I. Ivan and E. James 1997. Transgeneic virus resistance sugarcane. Proceedings of plant & Animal Genome V Conference. San Diego, CA January, 12- 16.

Monti, L.M. 1992. The use of wild species in crop improvement. In: Biotechnology: Enhancing Research on Tropical Crops in Africa. Thottappilly, L.M.; D.R. Mohan Raj, A.W. Moore (eds.). Ebenezer Baylis & Son Ltd UK, pp. 55- 62.

Nelson, R.R. 1973. Breeding Plants for Disease Resistance. Penn. State Univ. Press.

Nelson, R.R. 1977. Breeding plants for disease resistance, concept and Application. The Pennsylvania State Univ. Press. Univ. Part and London.

Neuhaus, G. and G. Spangenberg 1993. Plant transformation by microinjection techniques. Physiol. Plant., 79: 213-217.

Neuhaus, G. and G. Spangenberg, O. Scheid and H.G. Sch weiger 1987. Transgenic rape seed plants obtained by microinjection into microspore- derived proembryos. Theoretical and Applied Genetics, 75: 30- 36.

Niks, R.E.; P.R. Ellis and J.E. Parlevliet 1993. Resistance to Parasite, In: Plant Breeding – Principles and prospects. Chapman& Hall London, London Hayward, M.D.; N.O. Bosemark and I. Romagwa, (eds.) pp. 422- 447.

Painter, R.H. 1951. Insect resistance in crop plants. Macmillan, New York.

Panda, N. and G. Khush 1995. Host plant resistance to insects. CAB International, Waling Ford UK, pp. 42.

Parlevliet J.E. and J.C. Zadoks 1977. The integrated concept of disease resistance; A new view including horizontal and vertical resistance in plants. Euphytica, 26:5- 21.

Paszkowski, J.; R.D. Shillito, and I. Potrykus 1984. Direct gene transfer to plants. EMBO J. 3: 2712- 2722.

Paterson, A.H.; S.D. Tanksly and M.E. Sorrds 1991b. DNA markers in plant improvement. Advances in Agronomy 46: 40- 90.

Pehu, E.; A. Karp, K. Moore, S. Ateele, R. Duncklas and M.G.K. Jones 1989. Molecular, cytogentic and morphological characterization of somatic hybrids of dihaploid *Solanum tuberosum* and diploid *Solanum brevidens*. Theoretical and Applied Genetics, 78: 696-704.

Perlak, F.J.; R.W. Denton, T.A. Armostrong, R.L. Fuchs, S.R. Sims, J.T. Greenplate and D.A. Fischoff 1990. Insect resistance cotton plants. Biotechnology 8: 939- 943.

Poehlman, J.M. 1987. Breeding Field Crops. Avi. Publishing Company, INC. Westport, Connecticut, USA.

Poehlman, J.M. and D.A. Sleper 1995. Breeding Field Crops Iowa State University Press Ames, USA.

Potrykus, I., R. Bilang, J. Futterer, C. Sautter, M. Schrott and G. Spangenberg 1998. Genetic engineering of crop plants. In: Agricultural Biotechnology. A. Altman (ed.) Marcel Dekker, Inc. New York, Basel- Hong Kong.

Powell- Abel; P.A.; R.S. Nelson; N. Hoffmann; S.G. Rogers; R.T Fraley and R.N. Beachy (1986). Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. Science 232: 738- 743.

Pupilli, F.; S. Businellis, M.E. Cacenes, F. Damiani and S. Arcioni 1995. Molecular, cytological and morpho-agronomical characterization of hexaploid smoatic hybrids of Medicago. Theoretical and Applied Genetics 90: 347- 355.

Queller, D.C.; J.E. Strassmann and C.R. Hughes 1993. Microsatellites and kinship. Trends Ecol. & Evol. 8(8): 285- 288.

Quires C.F. and G.R. Buchan 1988. The genus Medicago and the origin of the Medicago sativa complex. In: Alfalfa and alfalfa improvement. Hanson, A.A.; D.K. Barnes and R.R.J. Hill (eds.) Agronomy Monograph No. 29, Madison, Wisconsin, USA pp. 93- 124.

Rana, R.K.; S. Madan and M. Shashi 1996. Improvement of nutritional quality of wheat through somaclones and mutants. In Agri- food quality: An interdisciplinary approach. Cambridge, UK; Royal Society of Chemistry 19- 22 ISBNO- 85404- 711- 5.

Roelfs, A.P. 1988. Resistance to leaf and stem rusts in wheat. In Breeding Strategies for resistance to the rusts of wheat, Simmonds, N.W. and Rajaram, S. (eds.) CIMMYT, Mexico, D.F. pp. 10-22.

Salamini, F. and M. Motto 1993. The rolw of gene technology in plant breeding. In : Plant Breeding – Principles and prospects. Hayward, M.D.; N.O. Bosemark and I. Romagwa (eds.), Chapman& Hall London, London, pp. 135- 159.

Sanford, J.C. 1988. The biolistic process a new concept in gene transfer and biological delivery. Trends Biotechnol. 6: 299- 302.

Sautter, C.; H. Waldner, G. Neuhaus- Url, A. Galli, G. Neuhaus and I. Botrykus 1991. Microtargeting: high efficiency gene transfer using a novel approach for the acceleration of micro- projectiles. Biotechnology, 9: 1080- 1085.

Shade, R.E., H.E. Schroeder, J.J. Pueyo, L. Tabe L.L. Murdock, T.J. V. Higgins and M.J. Chrispeels 1994. Transgenic pea seeds expressing the alpha- amylase inhibitor of the common bean are resistant to bruchid beetles, Biotechnology 12: 793- 796.

Sharp, W.R.; D.A. Evans and P.V. Ammirato 1984. Plant genetic engineering. Designing crops to meet feed industry specifications. Food Technology 112- 113.

Simmonds, N.W. and J. Smartt 1999. Principles of Crop Improvement. Blackwell Science Ltd.

Singh, R.S. 1984. Introduction to principles of plant pathology. Oxford& IBH Publishing Co. New Delhi, Bombay and Calcutta.

Singsit, C.; R.C. Veillenx and S.B. Sterret 1990. Enhanced seed set and crossover frequency in regenerated potato plant following anther and callus culture. Genome 33: 50- 56.

Tanksley, S.D; S.R. McCouch 1997. Seed banks and molecular maps: Unlocking genetic potential from the world. Science 277: 1063- 1066.

Sttuart, D.A.; J. Nelson, S.G. Strickland and J.W. Nichol 1985. Factors affecting development process in alfalfa cell cultures. In: Tissue culture in Forestry and Agriculture, Henke, R.R.; K.W Hunghes; M.P. Constantin and A. Hollaender (eds.) Plenum Publishing, New York pp. 59- 73.

Tanksley, S.D.; N.D. Young, A.H. Paterson, M.W. Bonierbale 1988. REFLP mapping in plant Breeding: New tools for an old science. Biotechnology 7: 257- 264.

Thorpe, T.A. 1995. Embryogensis in plants. Current plant science and Biotechnology in Agriculture, Vol. 20 Kluwer Publishing, Dordrecht, Netherlands.

Tien, P. and G. Wu 1991. Satellite RNA for the biocontrol of plant disease. Advances in Virus Research, 39: 321- 339.

Vaeck, M.; A. Reynaerts; H. Hofte; S. Jansens; M. De Beuckeleer; C. Dean; M. Zabeau; M. Van Montagu and J. Leemans 1987. Transgenic plants protocol for insect attack, Nature, 328: 33- 37.

Van Der Blank, J.E. 1963. Plant Disease: Epidemics and Control. Academic Press, New York.

---------------------- 1968. Disease Resistance in Plants. Academic Press, New York.

----------------------- 1984. Disease resistance in plants. Academic Press Inc. Orlando.

VanEtton, H.D.; D.E. Mathews and P.S. Mathews 1989. Phytoalexins detoxification. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 29:103- 110.

Vos, P.;P. Stephenson, D. Laurie, W. Li, D. Tag and D. Gale 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. NAR 23: 4407- 4414.

Watson, I.A. 1970. The utilization of wild species in the breeding of cultivated crops resistant to plant

pathogens. In: Genetic Resources in Plants- Their exploration and Conservation, Frankel, O.H. and Bennett, E. (eds.), Blackwell, Oxford, pp. 441- 457.

Whitney, P.J 1976. Microbial plant pathology. Hutchinson, London.

Wilkins, T.A. and N.V. Raikhel 1989. Expression of rice lectin is governed by two temporarily and specially regulated mRNAs in developing embryos. Plant Cell 1: 541- 549.

Williams, J.G.K; A.R. Kubelik; K.J. Livak, J.A. Raflski and S.V. Tingey 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nuclies Acid Res. 18: 6531- 6535.

Wisniewsk, L.A.; P.A. Powell; R.S. Nelson and R.N. Beachy 1990. Local and systemic spread of tobacco mosaic virus in transgenic tobacco. Plant Cell 2: 559- 567.

Wood, D.R.; K.M. Rawal and M.N. Wood 1983. Crop Breeding. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.

Wu, J.L., Q.L. Zhong, F.H. Nong and T.M. Chang 1980. Embryogensis in corn culture. Acta Photo. 6(2): 221- 224.

Xie, O.J. and M.C. Rush 1990. Heritability of somaclonal variation and plant regeneration from protoplast in rice (abstract). In Proceedings of the Annual Meeting of the Rockfeller Foundation’s International Program on Rice Biotechnology. IRRI, Los Banos, Philippines.

Yu, K. and K.P. Paul 1993c. Identification of a RAPD marker associated with somatic embryogensis in alfalfa, Plant Molecular Biology 22: 269- 277.

Zhang, Z. 1982. Application of anther techniques to rice breeding. Pages 55- 61 in Rice Tissue Culture Planning

Conference. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.

+++

رقم الإيداع
2002 /18265

الترقيم الدولى ISBN
977- 244- 089- X